جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلميّ
جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

تقييم محتوى المركبات الفعالة المضادة للأكسدة لمستخلصات بعض أجزاء نبات البرتقال (*Citrus sinensis* L.)

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل الطالبة

إيمان محسن كاظم

بكالوريوس علوم الحياة – كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى

2004 – 2003

بإشراف

أ.د. نجم عبد الله جمعة **أ.م .د. نغم سعدون إبراهيم**

رجب 1442هـ اذار 2021 م

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿ فَأَنشَأْنَا لَكُمْ بِهِۦ جَنَّٰتٍ مِّن نَّخِيلٍ وَأَعْنَٰبٍ لَّكُمْ فِيهَا فَوَٰكِهُ كَثِيرَةٌ وَمِنْهَا تَأْكُلُونَ ﴿١٩﴾ ﴾

صدق الله العظيم

سورة المؤمنون، الآية (19)

الإهداء

الى الرحمة المهداة و معلم البشرية الاول نبينا محمد صلى الله عليه وسلم.

الى من غرس في نفسي طلب العلم منذ الصغر والدي رحمه الله.

الى من حملتني وهنا على وهن واضاءت لي الطريق بدعائها امي حفظها الله.

الى من يمدني بالعزيمة والصبر وسندي عند الصعاب زوجي الحبيب.

الى مناهل العلم التي لا تنضب اساتذتنا الافاضل وفقهم الله.

الى من علمني التفاؤل والمضي للامام اخوتي واخواتي الاعزاء.

الى الارواح الطيبة التي ارتقت للسماء شهداء الوطن وضحايا جائحة كورونا رحمهم الله.

الى كل من ساندني ولو بدعوة.

اهدي ثمرة جهدي وبحثي.

الباحثة

الشكر والتقدير

الحمد لله والصّلاة والسّلام على رسول الله وعلى اله وصحبه ومن والاه قيل في الاثر ((كُنّ عالماً.فإن لم تستطع كن متعلمًا، فإنْ لم تستطع فأحب العلماء، فإن لم تستطعْ فلا تبغضهم)).

يسعدني ويشرفني أنْ اتوجه بخالص شكري وامتناني الى الاستاذ الدكتور نجم عبد الله جمعة والأستاذ المساعد الدكتور نغم سعدون ابراهيم لاقتراحهما موضوع البحث ومتابعتهما المتواصلة وما قدماه لي من توجيهات ونصائح سديدة وملاحظات قيمة طوال فترة العمل وكتابة الرسالة جزاهم الله عني خير الجزاء. يسرني ان اتقدم بأسمى عبارات الشكر والتقدير الى جميع اساتذتنا الافاضل في قسم علوم الحياة – كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى داعية المولى عزوجل ان يحفظهم ويديمهم لنا شموعا مضيئة في طريق العلم والمعرفة.

اتقدم بالشكر الجزيل لكل من الاستاذ الدكتور فاضل محسن التميمي والاستاذ المساعد الدكتور مثنى عبد القادر المهداوي وطالب الدكتوراه محمد رضا هادي من كلية العلوم- جامعة ديالى لمساعدتهم في اتمام الجزء العملي من البحث جزاهم الله خيرا. شكري وامتناني الى عائلتي التي تحملت وصبرت معي على مدى عامين كاملين،والى جميع زملائي وزميلاتي طلبة الدراسات العليا . كما اتوجه بجزيل الشكر والامتنان الى السادة أعضاء لجنة المناقشة لتفضلهم بقبول مناقشة الرسالة وما سيبدونه من ملاحظات وتوجيهات ستزيد الرسالة اغناء. ختاماً كلمة حب وعرفان لكل من وقف وساند ومد يد العون ولو بكلمة او نصيحة او دعوة اضاءت طريقي لاتمام هذا العمل، والحمد لله رب العالمين في الاولى وفي الاخرة.

الباحثة

إقرار المشرفين

نشهد أن إعداد الرسالة الموسومة بـ **(تقييم محتوى المركبات الفعالة المضادة للأكسدة لمستخلصات بعض أجزاء نبات البرتقال.*Citrus sinensis* L)** التي قدمتها الطالبة **(ايمان محسن كاظم)** قد جرى تحت إشرافنا في قسم علوم الحياة – كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة.

التوقيع :

المشرف: أ. د.نجم عبد الله جمعة

اللقب العلمي : أستاذ دكتور

كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

التاريخ : / /2021

التوقيع :

المشرف : أ.م.د. نغم سعدون إبراهيم

اللقب العلمي : أستاذ مساعد دكتور

كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة ديالى

التاريخ : / / 2021

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناءً على التوصيات المتوافره نرشح هذه الرسالة للمناقشة

التوقيع :

الاسم : أ.م.د. ذكرى عطا أبراهيم

اللقب العلمي : أستاذ مساعد دكتور

رئيس لجنة الدراسات العليا – رئيس قسم علوم الحياة

التاريخ : / / 2021

إقرار لجنة المناقشة

نشهد نحن رئيس وأعضاء لجنة المناقشة , أننا قد اطلعنا على الرسالة الموسومة بـ **(تقييم محتوى المركبات الفعالة المضادة للأكسدة لمستخلصات بعض أجزاء نبات البرتقال.*Citrus sinensis* L)**

التي قدمتها الطالبة **(إيمان محسن كاظم)** وقد ناقشنا الطالبة في محتوياتها بتاريخ **2021/3/2** ووجدناها مستوفية لمتطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة بتقدير ( ) .

رئيس اللجنة

التوقيع :

الأسم : أ.م .د. ماهر زكي فيصل

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد دكتور

التاريخ : / / 2021

عضواً

التوقيع :

الأسم : ا.م.د. ايوب جمعة عبد الرحمن

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد دكتور

التاريخ : / / 2021

عضواً

التوقيع :

الأسم : ا.م.د. سعاد خيري عبد الوهاب

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد دكتور

التاريخ : / / 2021

عضواً ومشرفاً

التوقيع :

الأسم : أ.د نجم عبد الله جمعة

المرتبة العلمية : أستاذ دكتور

التاريخ : / / 2021

عضواً ومشرفاً

التوقيع :

الأسم : أ. م.د. نغم سعدون ابراهيم

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد دكتور

التاريخ : / / 2021

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

التوقيع:

الاسم: أ.م.د. غالب ادريس عطية

المرتبة العلمية : استاذ مساعد دكتور

التاريخ : / / 2021

إقرار المقوم العلمي

أشـهد أن هـذه الرسـالة الموسـومة بـ **(تقيـيم محتـوى المركبـات الفعالـة المضـادة للأكسـدة لمستخلصات بعض أجزاء نبات البرتقال.L *Citrus sinensis***) التي قدمتها طالبة الماجستير **(ايمان محسن كاظم)** قد تمت مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة.

التوقيع:

الاسم: أ.م.د.ايمان حسين هادي

اللقب العلمي: أستاذ مساعد دكتور

التاريخ : / / 2021

إقرار المقوم اللغوي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ **(تقييم محتوى المركبات الفعالة المضادة للأكسدة لمستخلصات بعض أجزاء نبات البرتقال.L *Citrus sinensis*)** التي قدمتها طالبة الماجستير **(إيمان محسن كاظم)** قد تمت مراجعتها من الناحية اللغوية ، وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة.

التوقيع:

الاسم: أ.م.د. ربى عبد الرضا عبد الرزاق

اللقب العلمي: أستاذ مساعد دكتور

التاريخ : / / 2021

الخلاصة :

تهدفُ الدراسة الحالية الى تقييم محتوى المركبات الفعالة وهي: الفينولات والقلويدات والكاروتينات والتانينات والصابونيات والفيتامينات الذائبة في الماء, لمستخلصات بعض اجزاء نبات البرتقال *Citrus sinensis* L.Osbeck والتي تشمل: الأوراق، والأزهار، والقشرة الخارجية للثمار، والقشرة الوسطى للثمار، فضلاً عن العصير والبذور . أظهرت النتائج ان أعلى تركيز للمواد الفعالة في نبات البرتقال كان للفيتامينات الذائبة في الماء والذي بلغ 442.28 ملغم .غم$^{-1}$ يليه الفينولات بتركيز 122.13 ملغم .غم$^{-1}$ ثم الكاروتينات والتانينات والقلويدات والصابونيات وبتراكيز بلغتْ 27.67 و 20.78 و 10.81 و 1.29 ملغم.غم$^{-1}$ بالتتابع. وتم تقيّيم الفعالية المضادة للاكسدة لتلك المركبات من خلال تحديد المحتوى الفينولي الكلي Total Phenolic Contents(TPC) والمحتوى الفلافونيدي الكلي (TFC) Total Flavonoid Content، واختبار كسح الجذر الحر المصنع (DPPH) 2,2 -diphenyl-1-picrylhydrazyl ، فضلاً عن اختبار القدرة على اختزال الحديديك Ferric Reducing Antioxidant Potential (FRAP).

تشير النتائج الى تفوق الاوراق في محتواها الكلي من الفينولات، مسجلةً أعلى متوسط بلغ 145.71 ملغم مكافئ حامض الغاليك .غم$^{-1}$ وزن جاف بالمقارنة مع عصير البرتقال والذي سجل المحتوى الفينولي الكلي الاوطأ وبمتوسط بلغ 57.18 ملغم مكافئ حامض الغاليك .غم$^{-1}$، في حين وجد أنّ اعلى محتوى للفلافونيدات كان قد تم الحصول عليه من القشرة الوسطى للثمار و بمتوسط بلغ 11.14 ملغم مكافئ Quercetin .غم$^{-1}$ وزن جاف بالمقارنة مع عصير الثمار، والذي سجل أقل متوسط من المحتوى الفلافونيدي الكلي وبلغت قيمته 5.81 ملغم مكافئ Quercetin .غم$^{-1}$ وزن جاف .

تبين نتائج الدراسة ان أعلى فعالية مضادة للاكسدة من خلال اختبار كسح الجذر الحر DPPH والتي بلغت قيمتها 2.64 ملغم.مل$^{-1}$ كان قد تم الحصول عليها من الازهار، في حين انّ اقل قيمة لتثبيط الجذر الحر DPPH والتي بلغت 0.86 ملغم.مل$^{-1}$ كان قد تم الحصول عليها من القشرة الخارجية للثمار. سجّلت الازهار أعلى فعالية مضادة للاكسدة من خلال اختبار FRAP وأعطت أعلى قيمة لاختزال ايون الحديديك بلغت 0.73 ملي مول Fe^{+2}.غم$^{-1}$ وزن جاف ، بينما سجلت الاوراق اقل قيمة لاختزال ايون الحديديك في اختبار FRAP وبلغ مقدارها 0.32 ملي مول Fe^{+2}.غم$^{-1}$ وزن جاف.

تشير النتائج الى وجود معامل ارتباط متوسط بين الفعالية المضادة للاكسدة للجذر الحر DPPH مع كل من المحتوى الفينولي الكلي (TPC) والمحتوى الفلافونيدي الكلي (TFC) والذي بلغ0.385 و 0.484 بالتتابع . تشير النتائج ايضاً الى وجود معامل ارتباط ضعيف بين الفعالية المضادة للاكسدة في اختبارFRAP مع كل من المحتوى الفينولي الكلي والمحتوى الفلافونيدي الكلي إذ بلغ 0.019 و 0.022 بالتتابع.

قائمة المحتويات List of contents

ت	الموضوع	الصفحة
	الخلاصة	أ – ب
	قائمة المحتويات	ت – ج
	قائمة الجداول	ح
	قائمة الصور	ح
	قائمة الاشكال	خ
	قائمة الملاحق	د
	قائمة المختصرات	ذ
1	الفصل الاول: المقدمة	1
2	الفصل الثاني: استعراض المراجع	4
2-1	نبات البرتقال: التصنيف العلمي والوصف النباتي	4
2-1-1	التوزيع الجغرافي لنبات البرتقال	5
2-1-2	فوائد وأهمية نبات البرتقال	6
2-1-2-1	الفوائد الطبية	6
2-1-2-2	ألفوائدالغذائية و الصناعية	8
2-2	المركبات الوظيفية لنبات البرتقال	9
2-2-1	المركبات الفينولية وانواعها:	9
2-2-1-1	الفينولات	9
2-2-1-2	الفلافونيدات	13
2-2-1-3	الاحماض الفينولية	15
2-2-2	القلويدات	16
2-2-3	الكاروتينات	18
2-2-4	التانينات	20
2-2-5	الصابونيات	21
2-2-6	الفيتامينات الذائبة في الماء	22
2-3	الجذور الحرة ومضادات الاكسدة والاجهاد التاكسدي	24

1-3-2	الجذور الحرة	24
1-1-3-2	مصادر الجذور الحرة	25
2-1-3-2	أهمية الجذور الحرة	26
2-3-2	مضادات الاكسدة	27
1-2-3-2	تصنيف مضادات الاكسدة	27
2-2-3-2	الية عمل مضادات الاكسدة	29
3-3-2	التزنخ التأكسدي	30
4-3-2	الاجهاد التاكسدي	31
4-2	طرائق تحليل وتشخيص المركبات الفعالة	32
3	الفصل الثالث :المواد و طرائق العمل	34
1-3	الأجهزة والمواد الكيميائية المستعملة:	34
1-1-3	الأجهزة والادوات المستعملة في الدراسة	34
2-1-3	المواد الكيميائية المستعملة في الدراسة	35
2-3	طرائق العمل:	36
1-2-3	جمع وتهيئة العينات	36
2-2-3	طرائق الاستخلاص	36
1-2-2-3	استخلاص الفينولات	37
2-2-2-3	استخلاص القلويدات	38
3-2-2-3	استخلاص الكاروتينات	38
4-2-2-3	استخلاص التانينات	39
5-2-2-3	استخلاص الصابونيات	40
6-2-2-3	استخلاص الفيتامينات الذائبة	41
3-2-3	تشخيص المركبات الفعالة في بعض اجزاء نبات البرتقال	41
1-3-2-3	ظروف تشخيص النموذج القياسي	42
2-3-2-3	حساب تراكيز المركبات الفعالة ملغم.غم$^{-1}$	45
3-3	تقدير المحتوى الفينولي الكلي والمحتوى الفلافونيدي الكلي:	45
1-3-3	تقدير المحتوى الفينولي الكلي في بعض اجزاء نبات البرتقال	45

2-3-3	تقديرالمحتوى الفلافونيدي الكلي في بعض اجزاء نبات البرتقال	47
4-3	تقييم الفعالية المضادة للاكسدة:	48
1-4-3	طريقة كسح الجذر الحر باستعمال DPPH	48
2-4-3	طريقة اختزال ايون الحديديك FRAP	48
5-3	التحليل الاحصائي	49
4	الفصل الرابع: النتائج والمناقشة	50
1-4	تقدير تراكيزالمركبات الفعالة في بعض اجزاء نبات البرتقال	50
1-1-4	تقدير تراكيز المركبات الفينولية (ملغم.غم $^{-1}$)	51
2-1-4	تقدير تراكيز المركبات القلويدية (ملغم.غم $^{-1}$)	55
3-1-4	تقدير تراكيز المركبات الكاروتينية (ملغم.غم $^{-1}$)	58
4-1-4	تقدير التانينات الكلية (ملغم.غم $^{-1}$)	62
5-1-4	تقدير تراكيز المركبات الصابونية (ملغم.غم $^{-1}$)	63
6-1-4	تقدير تراكيز الفيتامينات الذائبة في الماء (ملغم.غم $^{-1}$)	64
1-2-4	تقدير المحتوى الفينولي الكلي TPC(ملغم مكافئ حامض الغاليك .غم$^{-1}$ وزن جاف)	67
2-2-4	تقدير المحتوى الفلافونيدي الكليTFC (ملغم مكافئ Quercetin .غم$^{-1}$ وزن جاف)	68
3-4	تقييم الفعالية المضادة للاكسدة:	69
1-3-4	تقييم الفعالية المضادة للاكسدة بطريقة الجذر الحر المصنع (ملغم .مل$^{-1}$)	69
2-3-4	تقييم الفعالية المضادة للاكسدة بطريقة اختزال الحديديك (ملي مول Fe^{+2}.غم$^{-1}$ وزن جاف)	70
3-3-4	معامل الارتباط بين TPC وTFC و DPPHو FRAP	71
5	الفصل الخامس الاستنتاجات والتوصيات	76
	المصادر العربية	77
	المصادر الاجنبية	78
	الملاحق	101

قائمة الجداول List of tables

رقم الجدول	اسم الجدول	الصفحة
1	الاجهزة المستعملة في الدراسة	34
2	المواد المستعملة في الدراسة	35
3	ظروف تشخيص النموذج القياسي للمركبات الفعالة لنبات البرتقال	43
4	تراكيز المركبات الفعالة في بعض اجزاء نبات البرتقال (ملغم.غم$^{-1}$)	50
5	تراكيز المركبات الفينولية في بعض اجزاء نبات البرتقال (ملغم.غم$^{-1}$)	52
6	تراكيز المركبات القلويدية في بعض اجزاء نبات البرتقال (ملغم.غم$^{-1}$)	55
7	تراكيز المركبات الكاروتينية في بعض اجزاء نبات البرتقال (ملغم.غم$^{-1}$)	59
8	تراكيز التانينات الكلية في بعض اجزاء نبات البرتقال (ملغم.غم$^{-1}$)	62
9	تراكيز المركبات الصابونية في بعض اجزاء نبات البرتقال (ملغم.غم$^{-1}$)	63
10	تراكيزالفيتامينات الذائبة في بعض اجزاء نبات البرتقال (ملغم.غم$^{-1}$)	65
11	معامل الارتباط بين TPC وTFC و DPPHو FRAP	72

قائمة الصور List of pictures

ت	اسم الصورة	رقم الصفحة
1	جهاز الأمواج فوق الصوتية	37
2	جهاز كروماتوجراف السائل عالي الكفاءة	42

قائمة الاشكال List of figuers

رقم الشكل	اسم الشكل	الصفحة
1	امثلة لبعض انواع المركبات الفينولية	11
2	المنحنى القياسي لحامض الغاليك	46
3	المنحنى القياسي للكيورستين	48
4	النسب المئوية للمركبات الفينولية في بعض اجزاء نبات البرتقال	54
5	النسب المئوية للمركبات القلويدية في بعض اجزاء نبات البرتقال	57
6	النسب المئوية للمركبات الكاروتينية في بعض اجزاء نبات البرتقال	60
7	النسب المئوية للتانينات الكلية في بعض اجزاء نبات البرتقال	62
8	النسب المئوية للمركبات الصابونية في بعض اجزاء نبات البرتقال	64
9	النسب المئوية للفيتامينات الذائبة في بعض اجزاء نبات البرتقال	66
10	المحتوى الفينولي الكلي (TPC) في بعض اجزاء نبات البرتقال	68
11	محتوى الفلافونيدات الكلي (TFC) في بعض اجزاء نبات البرتقال	69
12	تقييم الفعالية المضادة للاكسدة باستعمال الجذر الحر DPPH	70
13	تقييم الفعالية المضادة للاكسدة بطريقة اختزال الحديديك FRAP	71
14	معامل الارتباط بين المحتوى الفينولي الكليTPC والجذر الحرDPPH	74
15	معامل الارتباط بين المحتوى الفلافونيدي TFC والجذر الحرDPPH	74
16	معامل الارتباط بين المحتوى الفينولي TPCوقوة الاختزالFRAP	75
17	معامل الارتباط بين المحتوى الفلافونيديTFC وقوة الاختزالFRAP	75

قائمة الملاحق List of appendixes

رقم الملحق	اسم الملحق	رقم الصفحة
1	التحليل الكروماتوجرافي للفينولات باستعمال تقنية HPLC	101
2	التحليل الكروماتوجرافي للقلويدات باستعمال تقنيةHPLC	102
3	التحليل الكروماتوجرافي للكاروتينات باستعمال تقنيةHPLC	103
4	التحليل الكروماتوجرافي للتانينات باستعمال تقنيةHPLC	104
5	التحليل الكروماتوجرافي للصابونيات باستعمال تقنيةHPLC	105
6	التحليل الكروماتوجرافي للفيتامينات باستعمال تقنيةHPLC	106

List of abbreviations قائمة المختصرات

Abbreviations	Key
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Potential
ROS	Reactive oxygen species
RNS	Reactive Nitrogen species
DNA	Deoxy Ribo Nucleic acid
HPLC	High performance liquid chromatography
GAE	Gallic Acid
DAD	Diode Array Detector
UAE	Ultrasonic Extraction
LDL	Low density lipoprotein
WHO	World Health Organization
SOD	Super Oxide Dismutase
GPX	Glutathione Peroxidase
CAT	Catalase
GR	Glutathione Reductase
TFC	Total Flavonoid Content
TPC	Total Phenolic Content
TBHQ	Tert Butylated Hydro Quinone
BHA	Butyl Hydroxy Anisole
BHT	Butyl Hydroxy Toluene
DE	Diethyl Ether
USDA	United States Department of Agriculture

1- المقدمة Introduction

تُعدّ الحمضيات من أهم أجناس العائلة السذبية Rutaceae والتي تتكون من 140 جنس وحوالي 1300 نوع ، تشمل الليمون والنارنج واليوسفي والبرتقال الحلو والبرتقال الحامض والكريب فروت وغيرها(Rafiq واخرون،2018 و Singh واخرون،2020). تعتبر الحمضيات مصادر طبيعية للعديد من المركبات النشطة والمهمة بيولوجيًا، والتي حظيت في السنوات القليلة الماضية باهتمامٍ بالغٍ، كونها ترتبط بصحة الانسان ومناعته (Rojas- Lema واخرون,2021), فضلاً عن دورها في التقليل من مخاطر الاصابة بالامراض المزمنة والعديد من انواع السرطانات وامراض القلب والاوعية الدموية (Liew واخرون،2018 و Jucá واخرون،2020).

نبات الُبرتقال *Citrus sinensis* L .Osbeck من الفواكه الغنية بمركبات الايض الثانوي ومضادات الأكسدة الطبيعية مثل الفلافونيدات والكاروتينات والفيتامينات، وفضلاً عن قيمته الغذائية وعصائره الطازجة فأنّ مخلفاته من القشور والبذور يمكن ان تكون مكملات غذائية رخيصة الثمن ، وكذلك يمكن الاستفادة منها في الصناعات الدوائية المختلفة (Singh،2019 وMa واخرون،2020 ؛Petrotos واخرون,2021).

تعمل مضادات الاكسدة Antioxidants على كبح نشاط الجذور الحرة Free Radicals، والتي هي ذرات أو جزيئات أو أيونات لها إلكترون واحد أو أكثر غير مزدوج، وتميل بشدة للتفاعل مع جزيئات أخرى للحصول على الالكترون المطلوب والوصول الى حالة الاستقرار (Sharma واخرون،2018).

تنشأ الجذور الحرة بصورة طبيعية في خلايا النبات والحيوان نتيجةً لعمليات التنفس الهوائي والايض الغذائي، وهي غير ضارة عندما تكون بتراكيز قليلة (Sies،2020)، أما عند وجودها

بمستوياتٍ عالية فانها تسبب الاجهاد التأكسدي الذي يؤدي الى تلف وموت الخلايا (Carocho واخرون،2018) . تؤدي مُضادات الأكسدة دوراً مهماً في التقليلِ من أضرارِ الجذور الحرة، لكونِها قادرة على تزويدها بالكترون دون ان تؤثر على استقرارها وبالتالي تثبيط عملية اكسدة الدهون والبروتينات والجزيئات الحيوية المهمة في الجسم (Kapoor واخرون،2019).

تُصنّف مضادات الاكسدة الى نوعين طبيعية واخرى مُصنّعة (Gupta واخرون،2019 وIsmaeel واخرون،2019). تتضمن مضادات الاكسدة الطبيعية الانزيمات الموجودة في الجسم، والبعض الاخر يمكن الحصول عليه من المصادر الغذائية . أما مضادات الاكسدة المصنعة فهي مركبات تضاف الى المنتجات الغذائية لغرض حِفظها وتأخير تاكسدها (shahidi و Zhong،2015 و Dacruz واخرون،2019). أثبتت العديد من المواد المضافة الصناعية انها ذات تاثير سميّ ومحفز لتكوين الخلايا السرطانية، لذلك لجأ الباحثون الى ايجاد بدائل طبيعية اكثر اماناً عند استعمالها (Kurutas ،2015).

يتم تقييم الفعالية المضادة للاكسدة بطرائق عديدة،منها تقدير المحتوى الفينولي الكلي Total Phenolic Content (TPC) والمحتوى الفلافونيدي الكلي Total Flavonoid Content (TFC)، واختبار القدرة على اختزال الحديديك Ferric Reducing Antioxidant Potential (FRAP) وأختبار الجذر الحر المصنع 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Suleman واخرون،2019)

ونتيجةً للتوجه الكبير في الوقتِ الحاضر بالاعتمادِ على مضادات الاكسدة الطبيعية والتي يتم الحصول عليها من النباتات، كالفواكه والخضراوات الغنية بتلك المركبات، أُجريت هذه الدراسة .

أهداف الدراسة:-

1. الكشف الكميّ و النوعي عن المركبات الفعالة في بعضِ أجزاء نبات البرتقال وذلك باستعمال تقنية كروماتوجراف السائل عالي الكفاءة (HPLC) .
2. تقدير المحتوى الفينولي الكلي(TPC) والمحتوى الفلافونيدي الكلي(TFC) في بعضِ أجزاء نبات البرتقال وتشمل الأوراق والأزهار والقشرة الخارجية للثمار والقشرة الوسطى للثمار والعصير والبذور.
3. تقييّم الفعالية المضادة للاكسدة للمركبات الفعالة وذلك باستعمال طريقة تثبيط الجذر الحر المصنّع DPPH وطريقة اختزال الحديديك FRAP.
4. ايجاد العلاقة الارتباطية بين المحتوى الفينولي الكليّ و المحتوى الفلافونيدي الكليّ والفعالية المضادة للاكسدة للاجزاء النباتية المدروسة.

2- استعراض المراجع Literature review

2-1- التصنيف العلمي والوصْف النباتي لنبات البُرتقال

Classification and Botanical Description of *Citrus sinensis*

Kingdom:Plantae

Supkingdom :Tracheophytes

Super division: Spermatophytes

Division: Magnoliophyta

Class: Magnoliopsida (Dicotyledons)

Sup class: Rosidae

Order: Sapindales

Family: Rutaceae

Genus: Citrus

Species: *C. sinensis* L. Osbeck

(2016 ,Al-Snafi)

تمتازُ شجرةُ البرتقالِ بكونِها من الأشجارِ دائمة الخضْرة ويتراوحُ ارتفاعها بين 6 م الى 10م وهي شجرةٌ مستديرة القمة لها اشواك رقيقة spines قابلة للانثناء، ساقها بنيّ غامق وكثير التفرع، اما الاوراق فهي ناعمة بيضوية الشكل احادية unifoliate وذات نهاية حادة، يتراوح طولها بين 2.5سم الى 16 سم وعرضها بين 0.5 سم الى8.3 سم ولونها أخضر داكن ولكل ورقة زوائد أو أجنحة صغيرة wings تُعدّ صفة تصنيفية مهمة للتمييز بين الانواع، اذ لاتمتلك جميع الحمضيات هذه الاجنحة -AL Anbari ،2014). تحتوي اوراقُ البرتقال ايضا على غدد زيتية تجعلها ذات رائحة قوية تشبه رائحة الثمرة وهذا يمكن تمييزه بشكل واضح عند تقطيع الاوراق أو سحقها (Milind وDev،2012). أزهار البرتقال خنثية صغيرة الحجم لا يتجاوز طولها 3 سم و يتدرج لونُها بين الاخضر الفاتح والابيض، وهي ذات موقع أبطي توجد بشكل تجمعات أو مفردة .

ثمرة البرتقال من النوع البسيط وتسمى Hespridium وهي محاطة بقشرة ناعمة ومزخرفة بدقة، يتدرج لونها بين الاصـــفر الفاتح والبرتقالي الغامق اعتمادا على نســـبة الكاروتينات فيها (Lado واخرون، 2019). تقســـم القشـــرة الى طبقة خارجية Exocarp أو تســـمى Flavedo وهي الجزء الخارجي الملون الغني بالغدد الزيتية، تليها الطبقة الوســـطى Mesocarp أوتســـمى Albedo وهي نسيج أبيض اللون وأسفنجي القوام ويحتوي على نسبة عالية من البكتين،وتأتي اخيرا الطبقة الداخلية Endocarp والتي هي الغشاء الرقيق المحيط بفصوص الثمرة(Etebu و Nwauzoma ،2014).

يتكون لبّ الثمرة من أكياسٍ عصـــيرية تحتوي على البذور المغطاة بطبقة الأندوكارب ويكون غنيّ بالســـكريات الذائبة وحامض الأســـكوربيك والبكتين والألياف والأحماض العضـــوية المختلفة . تتصـــف بذور البرتقال بكونها متعددة الاجنّة ومســـطحة و ناعمة ذات لون ابيض، يتراوح عددها بين 9-16 اي بمعدلِ بذرتان في كل فصّ (Favela-Hernández واخرون،2016).

2-1-1-التوزيع الجغرافي Geographical Distribution of *Citrus sinensis*

تزدهرُ زراعة أشـــجار البرتقال في المناطق الاســـتوائية وشـــبه الاســـتوائية، ويُعتقد أنها نشـــأتْ في جنوب شـرق آسـيا ثم وصـلتْ عن طريق التجار العرب إلى مصـر وشـمال أفريقيا في القرن العاشـر ومنها انتشرت الى جميع بلدان العالم (Sevindik واخرون, 2018 و Ma واخرون،2020) .

تعد الحمضيات من النباتات المهمة اقتصادياً والتي غيّرت بعض خصـائصـها ونجحت في التأقلم مع بيئتها الجديدة (عبيد واخرون،2013).

أشـار Abobatta (2019) الى أنَّ حوالي 70%من إجمالي إنتاج الحمضـيات يُزرَع في نصـف الكرة الشـمالي،ووصـل الإنتاج العالمي لها الى 125 مليون طن في عام 2018، وقد احتلتْ الصـين المرتبة الأولى تليها البرازيل والهند والولايات المتحدة الأمريكية وإســبانيا والمكســيك ومصـــر وإيران.

تحتل اشـجار الحمضـيات في العراق المرتبة الثانية بعد العنب من حيث العدد، ويقدّر إنتاج البرتقال بحوالي 133500طن للموسم الشـتوي 2019 . أحتلت محافظة صـلاح الدين المركز الأوّل وبنسـبة انتاج بلغت 38.4% تليها بغداد 28.1 %،بينما أحتلت محافظة ديالى المركز الثالث وبنسـبة 19.2%، في حين شكلت باقي المحافظات نسبة 14.3% من مجموع الانتاج الكلي (الجهاز العراقي المركزي للاحصاء،2019).

2-1-2- اهمية نبات البرتقال *Citrus sinensis* The importance of

2-1-2-1 الفوائد الطبية Medical benefits

يسـمى البرتقال فاكهة السـعادة وقد قيل في الامثال القديمة ,لا وجود للصـحة في مكان لا وجود للبرتقال فيه، فهو يُعدّ مصـدراً للمواد الكيميائية النافعة والتي يمكن الاسـتفادة منها للاغراض الدوائية والصـيدلانية (Singh،2019) . تم تحديد عدة انواع من المركبات الثانوية في ثمار وقشـور وأوراق وعصـير البرتقال مثلFlavonoids و Alkaloids و Phenolic acids و Coumarins و Tannins و Carotenoids و Volatile Compounds وبعض العناصر المغذيّة مثل البوتاسيوم والمغنيسيوم والكالسيوم مع نسبة عالية من فيتامين C . وقد وجِد ان العديد من هذه المركبات تؤدي دوراً مهماً في الوقاية من الالتهابات والاورام السـرطانية كونها تعمل كمواد مضـادة للاكسـدة ومثبطة لتكوين الجذور الحرة (Wang واخرون 2018 وDenaro واخرون,2021). بيّن Koolaji وأخرون (2020) أن تناول الاطعمة الغنية بالفلافونيدات أرتبطَ بتحسـن نتائج مرضـى القلب والأوعية الدموية وتصـلب الشـرايين . أشـارتEl- Desoukey (2018) في دراسـةٍ لها أُجريت على نبات البرتقال، الى أن المستخلصات المائية والكحولية للقشور أظهرت نشاطا مضادا للميكروبات و بعض مسـببات الأمراض مثل المكورات العنقودية الذهبية وبكتريا *Bacillus cereus* و *Candida*

albicans و *Pseudomonas aeruginosa* أوضح Setyawati واخرون(2018) في دراسة لهم أن مادة النارنجين Naringen المستخلصة من قشور البرتقال تعمل على تحسين وظيفة الكبد وزيادة مقاومته للامراض الناجمةعن التدخين.

يساهم البرتقال في علاج الاكتئاب والقلق، فضلاً عن أنه يحسّن الشهية ويمنع الامساك (Mannucci واخرون، 2018) . وقد وجِدَ ان برتقالة واحدة يمكن ان توفر 12.5% من الحاجة اليومية للألياف التي تساهم في الحفاظ على نسبة السكر في الدم تحت مستويات السيطرة، لذلك يعتبره مرضى السكري وجبة خفيفة وصحية، و أظهرت التجارب السريرية أن الأشخاص الذين يشربون كوباً من عصير البرتقال يومياً لمدة أربعة أسابيع يحصلون على ارتفاع في مستويات الكوليسترول الحميد (Rodrigo واخرون،2015 و Musumeci واخرون ,2019).

تعمل فاكهة البرتقال على علاج السمنة وأمراض التمثيل الغذائي، أذ تظهر الـ Flavonoids و p-Synephrine تأثيرات مضادة للسمنة من خلال آليات متعددة، بما في ذلك تنظيم استهلاك الطاقة و تنظيم التمثيل الغذائي للدهون (Kegele واخرون،2019) . أوضح Darvishpor واخرون (2018) انّ تركيبة رذاذ الأنف من الزيوت العطرية المستخرجة من قشور البرتقال لها دورٌ كبير في السيطرة على الغثيان والتقيؤ . وان المستخلص الكحولي للقشور قد نجح في تقليل الاصابة بالأمراض اللثويّة مثل التهاب ونزيف اللثة فضلاً عن المساهمة في تبيّيض الاسنان (Pratiwi واخرون،2017 و Mandal واخرون،2018).

2-1-2-2-الفوائد الغذائية والصناعية Nutritional and industrial benefits

تحظى الحمضيات عامة والبرتقال خاصة بشعبية كبيرة في جميع أنحاء العالم بسبب القيمة الغذائية و الطبية العالية (Qadir واخرون،2018 وBhuiyan و اخرون,2019) . وعادةً ما يستهلك البشر عصير البرتقال بكميات كبيرة،فهو يحافظ على توازن الماء والسوائل في الجسم ويقوي المناعة ويعمل كمنشط عام نتيجة لوجود نسب عالية من فيتامين C والعديد من المركبات الفعالة الاخرى (Verma واخرون،2020 و Petrotos واخرون ,2021).يشيعُ استعمال الزيوت الاساسية Essential Oils للبرتقال كعوامل نكهة في المنتجات الغذائية (مثل المخللات والمعجنات والمشروبات والجبن والخبز)، وغالبًا ما توجد الفينولات المتعددة (Polyphenols) بتركيزٍ معقولٍ في الجزء الخارجي غيرِ القابلِ للأكل من الثمرة مقارنة بالجزء الداخلي منها و يكون نشاطها المضاد للأكسدة أعلى من أجزاء الفاكهة الصالحة للأكل، لذلك يمكن استعمال قشور الحمضيات كمصادر للمركبات الوظيفية ومواد حافظة للمنتجات الغذائية لانها ليست آمنة فحسب لكنها تعزز الصحة وتقلل من خطر الاصابة بالامراض المزمنة (Singh واخرون،2020). بيّن Hussein واخرون (2019) أن اضافة الزيوت الاساسية المستخلصة من قشور البرتقال الى منتجات المخابز (الكعك والكيك الاسفنجي) يمكن أن يكون مفيدًا لزيادة استقرار التخزين في درجة حرارة الغرفة ولاكثر من اسبوعين .

أوضح Crizelواخرون(2015) انّ إضافة منتجات ألياف البرتقال إلى الباستا والمعكرونة تعد أمراً مثيراً للاهتمام لأن الألياف لها قيمة غذائية عالية ووفرة من مضادات الأكسدة . وأن دمج مسحوق القشور في البسكويت يزيدُ من الالياف الخام ، والرماد ، ومحتويات الفينول ،ويقلل من المحتوى الكربوهيدراتي للبسكويت (رامز واخرون,2017).

في دراسة أُجريت عن تأثير مستخلص قشور البرتقال في بعض صفات الجيلاتين المستحصل عليه من سمك الحبار (Cuttlefish) *Sepia officinalis* وجِد ان صفات الجلاتين الفيزيائية والكيميائية والحرارية والميكانيكية قد تحسنتْ عند دمجه مع تراكيز مختلفة من مستخلص قشر البرتقال واصبح اكثر فاعلية لاستعماله كبدائل في التغليف الصناعي وحفْظ الاغذية (Jridi واخرون، 2019) . في تجربة حقلية قام بها الزبيدي و التكريتي (2016) اثبتا فيها ان أفراخ الدجاج اللاحم Broiler chicken التي تحتوي أعلافها على مستويات عالية من قشور البرتقال قد تقلص في امعاءها عدد البكتيريا المرضية، وانخفض معدل تكوين الدهون الثلاثية في خلاياها . و قد يشمل التأثير الايجابي جميع معايير الدم مثل الكوليسترول وحامض اليوريك والبروتين فضلاً عن تركيز الهيموغلوبين و العدد الكليّ لخلايا الدم البيض (Seidavi واخرون، 2015) .

2-2 المركبات الوظيفية لنبات البرتقال Functional compounds of *Citrus sinensis*

نبات البرتقال هو مصدر للعديد من مركباتِ الأيض الثانوي كالفينولات والكاروتينات والفيتامينات والقلويدات والزيوت الطيارة والتي تعمل كمضادات أكسدة طبيعية، تتبرع بالالكترونات وتحمي الخلايا من أضرار الجذور الحرة(Panche و اخرون,2016 و Sir-Elkhatim واخرون،2018 ؛Zhang واخرون،2020) . ومن أهم هذه المركبات:

2-2-1 المركبات الفينولية وتشمل:

2-2-1-1 الفينولات Phenols

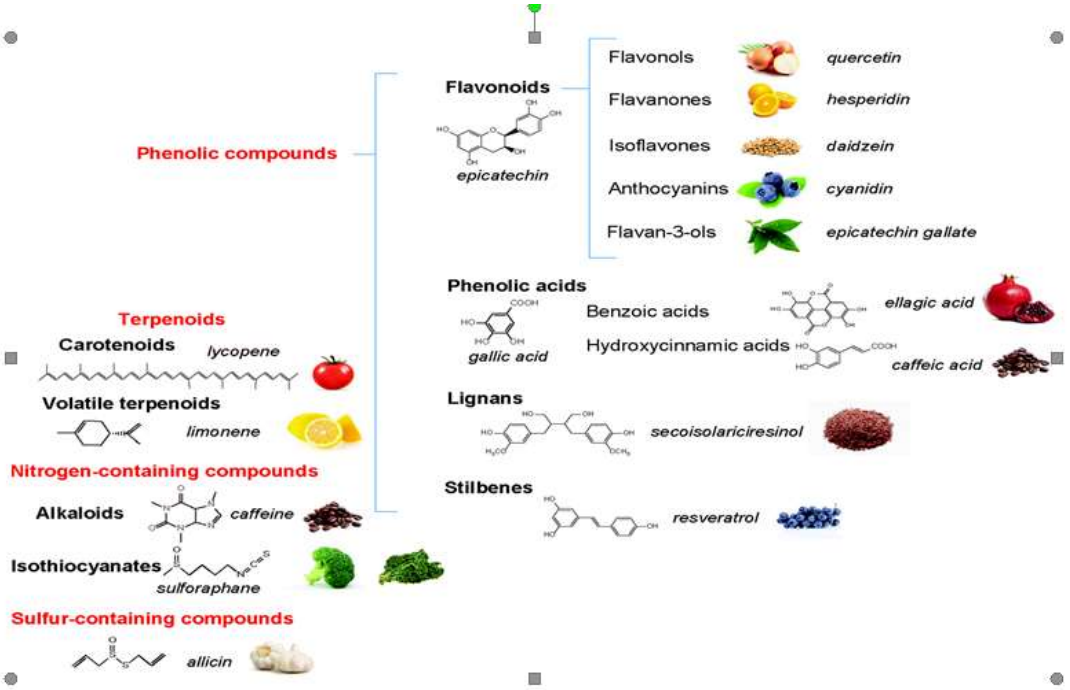
وهي مركبات حلقية أروماتية تتكون من حلقة بنزين تحمل مجموعة هيدروكسيل واحدة أو أكثر وتزداد فعاليتها كلما زادت فيها مجاميع الهيدروكسيل (Kaleem و Ahmad،2018). تذوب الفينولات في الماء وتكون اما بسيطة Monophenols أو متعددة Polyphenols وتوجد في

النبات مرتبطة مع جزيئات السكر لان الفينول الحر يكون سام (Pereira واخرون،2009). تنتج الفينولات بكميات قليلة لكنها تؤدي أدوار مهمة في جسم النبات(Al-Mahdawe واخرون،2018). تعمل الفينولات كمعقمات ومطهرات في جسم النبات وخاصة في حالة الجروح أو الاصابة بالفطريات،اذ تزداد مستوياتها ونسبها ثم تتحلل بواسطة انزيم الـGlycosidase لتصبح مضادات حيوية ضد الفطريات، وتخضع هذه العملية الدفاعية لسيطرة وراثية محكمة (Dai وMumper،2010 وAsif ,2015).

تشكل الفينولات مجموعة واسعة من مركبات الايض الثانوي، اذ يتجاوز عددها 8000 مركب وهي ذات هياكل كيميائية متنوعة وأنشطة بيولوجية مختلفة (Al-Mashea واخرون،2018) .

تصنف الفينولات الى مجموعتين رئيسيتين:

الأولى: مجموعة الفلافونيدات وتشمل Anthocyanins وFlavanols و Flavanones و Flavonols وFlavonones و Isoflavones . أما غير الفلافونيدات فتشمل Phenolic acids و Coumarins و Tannins و Lignin و Lignans ويعد هذا التصنيف هو الاكثر شيوعًا (Tundis واخرون،2019 و Durazzo واخرون،2019) ، يوضح شكل (1)بعض المركبات الفينولية.



شكل(1) أمثلة لبعض المركبات الفينولية حسب (Fraga واخرون،2019)

تعمل الفينولات كمضادات للأكسدة بعدة طرائق منها:

1- مجموعات الهيدروكسيل فينول هي جهات مانحة ومتبرعة للهيدروجين , يمكن ان تتفاعل مع الجذور الحرة في تفاعل الإنهاء والذي يكسر دورة توليد الجذور الجديدة .

2- الفينولات قادرة على تخليب أيونات المعادن المشاركة في إنتاج الجذور الحرة.

3- البنى الفينولية لها القدرة على التفاعل بقوة مع البروتينات بسبب حلقات بنزينويد الكارهة للماء وامكانية الترابط الهيدروجيني مع مجموعة الهيدروكسيل .

4- تعمل الفينولات كمضادات للأكسدة أيضًا بفضل قدرتها على تثبيط بعض الإنزيمات المشاركة في توليد الجذور الحرة، مثل الأشكال المختلفة من السيتوكروم P450 وانزيمات الأكسدة الدهنية Lipoxygenases وانزيمات الأكسدة الحلقية Cyclooxygenase و انزيم الزانثين اوكسديز Xanthine Oxidase(Huerta-Ochoa واخرون،2019).

أُجريت في العراق العديد من الدراسات لتشخيص وتنقية المركبات الفعالة لنبات البرتقال, ومن أهم هذه البحوث هي الدراسة التصنيفية لـ16 نوع من الحمضيات والتي أُجريت من قبل Al-Anbari واخرون (2013). استعملت في هذه الدراسة تقنية HPLC لتشخيص ثمانية انواع من الزيوت الطيارة هي Limonene و Geranylmethylether وOctadiene و Methoprene و Citral و Mehap و Octenal و Erucylamide، فضلاً عن عدد من الفينولات اهمها، Benzoic acid و Cinamic acid و Naringin و Inetin و Caffeic acid، اذ اعتُمدت هذه المركبات للتصنيف والتمييز بين الانواع المتقاربة من الحمضيات.

قام Molan واخرون (2016) بتقييم الفعالية المضادة للاكسدة لقشور وبذور البرتقال العراقي (*C.sinensis*) وتقدير محتواها من الفينول الكلي (TPC) وبحسب طريقة Folin-Ciocalteu، وذلك باستعمال اربعة مذيبات مختلفة وهي الماء البارد والماء المغلي وكحول الايثانول 50% وحامض الهيدروكلوريك 5 %، النتائج التي توصل اليها الباحثون اثبتت تفوق القشور على البذور في محتواها من الـ (TPC) واعطت فروقا معنوية واضحة عند مستوى احتمال ($P < 0.05$).

في دراسة اجريت من قبل Zhang واخرون (2018) لتقييم إجمالي المحتوى الفينولي والفعالية المضادة للاكسدة في الحمضيات (القشور ومخلفات اللب والبذور والعصائر) لـ 19 نوعًا مختلفا. بينت النتائج، امتلاك القشور أعلى محتوى من الفينول الكلي وبلغت قيمته 27.18 ملغم مكافئ حامض الغاليك. غم$^{-1}$ وزن جاف، كذلك تفوقت القشور على الاجزاء النباتية الاخرى في نشاطها المضاد للاكسدة، و بلغت قيمة DPPH 21.92 ملغم مكافئ لفيتامين C، في حين تراوح معامل الارتباط بين الفينولات الكلية وقدرتها المضادة للأكسدة لاجزاء الحمضيات المختلفة من 0.079 الى 0.792 .

2-1-2-2 الفلافونيدات Flavonoids

وهي مجموعة من المواد الطبيعية ذات الهياكل الفينولية المتغيرة، تعود تسـمية الفلافونيدات الى الكلمة الاغريقية Flavus وتعني اللون الاصفر وتوجد في الفواكه والخضروات والحبوب واللحاء والجذور والسـيقان والأزهار والشـاي والنبيذ (Panche واخرون،2016). تعتبر الفلافونيدات الآن مكونًا لا غنىً عنه في مجموعةٍ متنوعةٍ من التطبيقات الغذائية والصيدلانية والتجميلية ويعزّى السبب في ذلك إلى خصائصها المضادة للأكسدة و للالتهابات و للطفرات و السرطانات إلى جانب دورها في خفض معدل وفيات مرضى القلب والأوعية الدموية وكذلك الوقاية من أمراض الشرايين التاجية (Ballard و Junior،2019) . تُعرف الفلافونيدات أيضًا باسم "المواد المغذية"، أذ تم التعرف على حوالي 4000 مركب منها وتم تحديد أكثر من 60 نوعًا منها توجد في ثمار الحمضيات(Sharma واخرون،2019). يتكون الهيكل الاساسي للفلافونيدات من 15 ذرة كربون،تحتوي جميعها على بنية مشتركة1، 3- ثنائي فينيل البروبان (C6-C3-C6)، هذه المركبات تتشكل كمركباتِ أيضٍ ثانوية مشتقة من اثنين من مسارات التخليق الحيوي وهي مسار حامض الشيكميك Shikimic Acid Pathway ومسار حامض المالونيك Malonic Acid Pathway (Martín واخرون،2017). الفلافونيدات من الأصباغ الطبيعية وهي مسؤولة عن مجموعة واسعة من الألوان في الاوراق والأزهار و الثمار، فمثلا الفلافونول والفلافونات تكون صفراء اللون، في حين تكون الأنثوسيانين زرقاء أو أرجوانية أو بنفسجية أو حمراء أو برتقالية، ومعظم هذه الصبغات ينتجها النبات كأستجابة للعدوى الميكروبية(Zhao واخرون،2020). تؤدي الفلافونيدات دورًا مهمًا في حياة النباتات فهي قادرة على تنظيم انتقال هرمون الاوكسين فضلا عن كونها صبغات تساعد في عملية التلقيح وتحمي النبات من الفطريات والميكروبات (Jucá واخرون،2020). تساعد الفلافونيدات النبات على مقاومة

عوامل الاجهاد اللاأحيائية (كالسموم والضوء القوي و الاشعة فوق البنفسجية) والتي تؤدي إلى توليد كميات زائدة من أنواع الأوكسجين التفاعلية مما يسبب شيخوخة وموت النبات (القيسي و اخرون,2015)

أجرى Chen واخرون (2020) دراسة موسعة للكشف عن النشاط المضاد للأكسدة في (قشور ولبّ وعصائر) الحمضيات ولـ27 صنفًا محليًا من الحمضيات في الصين . اشار الباحثون في نتائجهم الى أن قشور الثمار في معظم الحمضيات تمتلك افضل امكانيات كمضادات للأكسدة، فضلا عن امتلاكها تنوعًا أكبر في التركيب والمحتوى الكيميائي مقارنة باللب والعصير. وبيّنت نتائجهم ايضاً ان كل نوع من الحمضيات يمتاز بوجود الفلافونيدات الخاصة به , فمثلا تميز اليوسفي بمحتواه العالي من الهسبريدين و النوبيليتين، بينما تميز البرتقال بمحتواه العالي من النارينجين،و بينت نتائج البحث ايضاً ان قشر *C.reticulate* كانت له أعلى قيم لـ TPC و TFC وبلغت 23.46 ملغم مكافئ حامض الغاليك . غم$^{-1}$ وزن جاف و21.37 ملغم مكافئ Rutin. غم$^{-1}$ وزن جاف، بالتتابع.

قام Olyad و اخرون (2020) بدراسةٍ لتقيّم المحتوى الفينولي والفعالية المضادة للاكسدة لقشور اربعة انواع من الحمضيات المزروعة في اثيوبيا وهي *C. sinensis* و*C. reticulate* و *C. limon* و*C. aurantifolia* ،أظهرت النتائج احتواء قشر الليمون على أعلى محتوى من الفلافونويد بلغ 8.88 ملغم مكافئ Quercetin . غم$^{-1}$ من المستخلص، وسجل اعلى قدرة على تثبيط الجذر الحر DPPH بنسبة 75.60 %،يليه مستخلص قشر البرتقال بنسبة 0.38 %، ولوحظ ايضا وجود معامل ارتباط قوي بين المحتوى الفلافونيدي لمستخلص قشر الحمضيات ونشاط إزالة الجذور الحرة والتي بلغت قيمته$R = 0.975$.

3-1-2-2 الأحماض الفينولية Phenolic acids

الأحماض الفينولية من أكثر الفينولات شـيوعا، وتوجد في مصـادر نباتية مختلفة مثل الفواكه والخضـروات والتوابل والحبوب وهي احماض مشـتقة من حامضـي Hydroxycynnamic acid و Hydroxybenzoic acid (Rottaواخرون،2019). يمتلك البرتقال العديد من الاحماض الفينولية مـثـل Caffeic acid و P-Coumaric acid وChlorogenic acid وFerulic acid و Cinnamic acid (Mahato واخرون،2019). أثبتت الأحماض الفينولية أهميتها كعوامل مضـادة لمرض السـكري وذلك لقدرتها على تثبيط عمل بعض الانزيمات ومنها انزيمي α-glucosidase و α-amylase وهما إنزيمان رئيسـيان مسـؤولان عن تحويل الكربوهيدرات إلى كلوكوز (Kumar و Goel،2019)، ولهذه الاحماض ايضـاً نشـاط مضـاد للحسـاسـية والألتهابات والعديد من انواع السـرطانات فضـلا عن دورها في مكافحة الشـيخوخة وفقدان الذاكرة وتسـاعد على شـفاء الجروح وتبييض البشـرة وازالة التجاعيد(Rashmi و Negi ،2020). أكتسـبتْ الاحماض الفينولية اهمية خاصـة في الصـناعات الغذائية والدوائية ومسـتحضـرات التجميل والكيمياويات لكونها تضـفي اللون والنكهة والصـلابة وتسـاهم في حفظ الصـفات النموذجية للاطعمة فهي تعمل كمضـادات للأكسـدة وتساعد في تأخير النمو الميكروبي (Sova و Sosa،2020).

بيّن Hernández واخرون (2020) في دراسـة لهم اجريت للتحري عن محتوى قشـر البرتقال من الفلافونيدات والاحماض الفينولية ودورها في حماية البرتقال من المسـببات المرضـية المختلفة، اشارت نتائجهم الى احتواء قشور البرتقال على نسبة عالية من حامضي Ferulic و p-coumaric فضلا عن دورها المميز في حماية البرتقال من بعض انواع الفطريات مقارنةً بالفلافونيدات.

2-2-2 القلويدات Alkaloids

هي مركبات عضـــوية قاعدية ذات تركيب حلقي، تحتوي على ذرة نتروجين واحدة أو أكثر، توجد القلويدات في المملكتين الحيوانية والنباتية ولها صـــفات صـــيدلانية مهمة في تحضـــير الأدوية . تم فصـــل أكثر من 6500 مركب قلويدي يتم إنتاجها في 350عائلة نباتية، اهمها الانواع التي تعود الى العائلة البقولية Leguminosae والعائلة الخشـــخاشـــية Papaveraceae والعائلة الباذنجانية Solanaceae و نادراً ماتوجد في ذوات الفلقة الواحدة (Mondal واخرون،2019).

توجد القلويدات على شـكل بلورات عديمة اللون والرائحة ذات طعم مُرّ، تتفكك في درجات الحرارة العاليـة ولهـا تـأثيرٌ فســـيولوجي في الكـائنـات الحيـة وان كـانـت بتراكيز قليلـة (Kohnen و Kayser،2019).وفقًا للهيكل الكيميائي تُصـــنف المركبات القلويدية الى قســـمين: الأول يتضـــمن قلويدات امينية متجانســـة الحلقة مثل Hordenine و Colchicine و Erythromycin بينما يشمل القسم الثاني قلويدات غير متجانسة الحلقة مثل Pyrrole و Pyrrolidine و Quinine (Othman واخرون،2019). أســـتُعملت القلويدات في الطب التقليدي والحديث، ففي نهاية القرن التاسع عشر تم التعرف على بعض الخواص الدوائية التي تسبب النوم لمستخلص الأفيون الخام وقد أدى اكتشاف وعزل هذا المركب المسمى لاحقًا المورفين Morphineدورًا رئيسيًا في تطور وصناعة الأدوية الحديثة . من المعروف ان العديد من القلويدات هي مركبات سـامّة، الا إن الثقافة البشـرية أســـاءتْ اســـتعمال بعضـــها كأدوية ترفيهية أو ترويحية مثل الكافيين والكوكايين والنيكوتين (Cushnieواخرون،2014). تمتلك الحمضـيات العديد من المركبات النيتروجينية و اشـباه القلويدات Protoalkaloids مـــثـــل Octopamine وPhenylephrine و Hordenine و N-methyltyramine فضـلا عن نسـب عالية من مركب p- Synephrine والذي يوجد في قشـور

البرتقال الحلو والبرتقال المُرّ وعادة ما يكون محتوى القشـــور منـه أعلى بكثير من محتوى اللـب والعصـير وبنسـبة تتراوح 0.1–0.3% وان نسـبة المركبات القلويدية في المراحل غير الناضـجة تكون أعلى منها في الفاكهة الناضجة (Farag واخرون،2020).

كشفت الدراسة التي أجراها Zhang و Jiao (2019) عن وجود ستة مركبات قلويدية في 25 نوع من الحمضيات في الصين وباستعمال تقنية HPLC، أظهرت النتائج وجود علاقة خطية لجميع المواد التحليلية مع معاملات الارتباط (R^2) الاعلى من 0.98 . وكان القلويد الرئيســي الســائد في القشـــور هو Synephrine وتراوحـت معـدلاتـه من 89.3 % الى 91.9 % يليـه N-methyltyramin و اقل منهما تركيز الـ Octopamine.

توجد نســـب ملحوظة من القلويدات و قواعد البيورين في ازهار الحمضـــيات وحبوب اللقاح والرحيق ، فضـــلاً عن نســـب من الكافيين والتي يُفترضْ أنها تتضـــاءل اثناء انتاج العســـل (Kretschmar وBaumann،1999) ويمكن ان تصـل هذه التراكيز إجمالاً إلى نسـبة 0.9% من الوزن الجـاف وهو قريـب من محـتوى الكـافيين في حبوب القهوة العربيـة(Kato و Nakayama،2018).تعمل القلويدات في النباتات كعامل منظم للنمو Regulatary Growth Factor ومخازن لتزويد النتروجين عند الحاجة،كذلك فأن السـميّة الشـديدة لهذه المركبات توفر الية دفاعًية قوية للنبات، على سـبيل المثال وجد أن الكافيين يعمل كمبيد طبيعي ضـد العث والطفيليات المفترسـة(O’Connor،2010). رغم ان الخصـائص التركيبية والوظيفية للقلويدات معقدة للغاية، الا ان اسـتخلاصـها وتنقيتها يحظى باهتمام كبير ،لكونها من المسـتحضـرات الصـيدلانية الحيوية التي أثبتت فاعليتها في علاج الاضطرابات العصبية والسكري والسرطان(Gutiérrez واخرون،2020).

3-2-2 الكاروتينات Carotenoids

الكاروتينات هي مكونات غذائية و أصباغ قابلة للذوبان في الدهون، توجد في الفواكه والخضراوات والطحالب والفطريات والاسماك والطيور وبعض انواع البكتريا،وعلى الرغم من وجود أكثر من 600 مركب للكاروتينات الا انه يوجد حوالي 40 كاروتينويد فقط يمكن الاستفادة منه في النظام الغذائي البشري،من ضمنها 20 مركب في الأنسجة و الدم والسوائل البيولوجية الاخرى في الانسان(التكريتي،2017).تعدُّ مَنّ البازلاء الحمراء red pea aphid (*Acyrthosiphon pisum*) وسوس العنكبوت spider mite (*Tetranychus urticae*) هي الحيوانات الوحيدة القادرة على انتاج الكاروتينات(Mezzomo و Ferreira ،2016). تمتص الكاروتينات أطوال موجية تتراوح بين 400-550 نانومتر لذلك فأن أغلب مركباتها تنتج اطياف جميلة من الالوان الصفراء والحمراء والبرتقالية والتي تساهم في عملية البناء الضوئي وتحمي النبات من الأشعة فوق البنفسجية (Tanو Norhaizan،2019).

بين Zakynthinos و Varzakas (2016) في دراسة لهم، أن الكاروتينات تعمل كمضادات قوية للأكسدة ولها القدرة على كسح الجذور الحرة ،اذ تعمل بشكل تآزري مع فيتامين C وفيتامين E, وتقوم بادوار وظيفية في الوقاية من الامراض السرطانية وأمراض القلب واعتام عدسة العين ,فضلا عن دورها في حماية البشرة من أضرار أشعة الشمس .الكاروتينات مركبات معقدة تمتلك 40 ذرة كاربون مشكلة من 8 حلقات من الايزوبرين ويمكن تصنيفها إلى فئتين رئيسيتين: الاولى كاروتينات هيدروكربونية مثل α-Carotene و β-Carotene و Lycopene، والثانية مشتقات مؤكسدة تحمل مجموعة كحول فعالة وتعرف باسم الزانثوفيلات Xanthophylls مثل Zeaxanthin و Lutein و Cryptoxanthin (Saini و Keum ،2018).

تشـــتق من الزانثوفيلات مجموعة مركبات تســـمى الأبوكاروتينات Apocarotenoids وهي منتجات مهمة بيولوجيًا وتجاريًا معظمها مركبات عطرية متطايرة مثل β–ionone و α-ionone تسـتعمل في مسـتحضـرات التجميل لكونها تمتلك خصـائص الحماية من الأشـعة فوق البنفسـجية(Petryو Mercadante ,2018 وEl-Rahman واخرون,2019) . تســـتعمل بعض الكاروتينات لتحسـين القيمة التجارية للمنتجات الحيوانية على سـبيل المثال اضـافة الصـبغة الوردية أسـتازانثين Astaxanthin الى منتجات اللحوم والروبيان ودهن زيت الســـمك يســـاعد في حفظ وخزن هذه المنتجات لفترة أطول (Murador واخرون،2019 و Haraواخرون,2021) .يمتلك البرتقال واحدا من أكثر اشـــكال الكاروتينويد تعقيدًا بين الثمار، فالقشـــور عمومًا غنية بـــــ β-Carotene و Cryptoxanthin و Zeinoxanthin، ونظرًا للكمية الكبيرة من الكاروتينويدات الإبوكســـية في البرتقال فإن تحليل اللب بالكامل بما في ذلك حويصـــلات العصـــير، ضـــروري عند تقدير كمية الكاروتينات الفعلية للثمرة (التكريتي،2017 وCheng واخرون،2020). قام Al-idee واخرون (2020) بتجربة لاستخلاص الاصباغ الكاروتينية من قشور البرتقال(*C. sinensis*) باستعمال ثلاثة مذيبات وهي: الإيثانول والأســـيتون والهكســـان وبدرجات حرارة مختلفة 30 و 40 و50 درجة مئوية وأوقات استخلاص 90 و 120 و 150 دقيقة لكل منهما. اظهرت نتائج الدراسة، ان الظروف المثلى لاسـتخلاص 21.18 ملغم . 100 غم$^{-1}$ من الكاروتينويد باسـتعمال الأسـيتون كانت 30 درجة مئوية ولمدة 90 دقيقة وحقق الإيثانول الحد الأقصـــى من الكاروتين وبلغ 13.34 ملغم . 100 غم $^{-1}$عند 44 درجة مئوية لمدة 105 دقيقة بينما تم الحصـول على أعلى إنتاجية للصـبغة المسـتخلصـة والتي بلغت 5.73 ملغم . 100 غم $^{-1}$عند41 درجة مئوية ولمدة 120 دقيقة وباستعمال الهكسان.

4-2-2 التانينات (العفصيات) Tannins

نوع من الفينولات المتعددة، وهي مركبات غير متبلورة ذات اوزان جزيئية عالية ولاتحمل ذرة نتروجين. تذوب هذه المركبات في الماء والكحول والكليسرين وسميت الدباغيات بسبب قدرتها على ترسيب البروتينات والجيلاتين في المحاليل ولذلك تستعمل في دباغة الجلود. توجد التانينات تقريبًا في معظم النباتات الراقية، في اللحاء والخشب والأوراق والجذور و تعمل كمواد دفاعية ضد الحشرات والطفيليات والعديد من انواع البكتريا الضارة للنبات (Pizzi،2019). تقسم التانينات إلى مجموعتين وهي : التانينات القابلة للتحلل Hydrolysable كما في الرمان والقرنفل وقشور البرتقال والتانينات المكثفة Condensed مثل مركب Catechol في الشاي والدارسين ومعظمها تمتلك خواص قابضة تساعد على تكوين خثرة وأنسجة جديدة تسرع في شفاء الجروح وعلاج التهاب الأمعاء والأغشية المخاطية (Pereira واخرون،2009). اشتقت كلمة الدباغة Tanningقديما من التانينات، أي تحويل جلود الحيوانات الى مواد صناعية صالحة للخزن، وهناك تطبيقات اخرى للتانينات مثل صناعة الحبر والاصباغ والمواد اللاصقة و تنقية المياه (Minocha،2015).

بيّن Fraga-Corral واخرون(2020) في دراسة لهم دور التانينات في الجسم كمضادات للأكسدة والتخثر والألتهابات عن طريق كسح الجذور الحرة وخلب العناصر الصغرى فضلا عن قدرتها على ترسيب البروتينات والانزيمات،مما يساعد في خفض مستويات الكوليسترول في الدم، ويمنع أكسدة الدهون منخفضة الكثافة Low Density Lipoprotein (LDL).

في دراسة أجريت من قبل Ezeabara واخرون(2014) لتقدير محتوى التانينات الكلي في جذور وساق واوراق وقشر الثمرة لستة انواع من الحمضيات وهي *C. sinensis* و*C.aurantifolia* و*C. grandis* و *C. paradisii* و*C. Limon* و*C. Reticulate*، اشارت النتائج الى تفوق الاوراق

في محتواها من التانينات الكلي في كل من *C. aurantifolia* و*C. limon* وبنسبة 1.44 %و1.30% على التوالي،بينما وجد اوطأ تركيز للتانينات في جذور كل من *C. reticulate* و *C. sinensis*و بنسبة مئوية بلغت 0.08%و0.06% بالتتابع. وفي دراسة اخرى قام بها Bentahar واخرون(2020) للمقارنة بين تركيز التانينات الكلي في القشور المجففة لنوعين من الحمضيات هما *C.sinensis* و *C.reticulata*، وجِدَ ان التركيز الكلي للتانينات بلغ 46.32 ملغم.غم$^{-1}$ و47.65 ملغم.غم$^{-1}$ بالتتابع .

2-2-5 الصابونيات Saponins

هي مركبات معقدة التركيب لها وزن جزيئي مرتفع وذات طعم مرّ لاذع، تتكون من جزء سكري Glycon مرتبط بجزء غير سكري يدعى بالصابوجنين(Sapogenin) وهو مركب ستيرويدي أو تربيني ثلاثي (Wisetkomolmat و اخرون،2019) . تذوب الصابونيات في الماء حتى في التراكيز المنخفضة مكونةً رغوة تطفو على السطح ، وتعدّ هذه طريقة تشخيصية للكشف عن هذه المركبات (Sonfack واخرون،2019)، تنتشر المركبات الصابونية في أكثر من 17 عائلة نباتية، من أمثلتها جذور عرق السوس *Glycyrrhiza glabra* ونبات زهرة الربيع *Primula veris*، وتعتبر بعض الكائنات البحرية مثل نجم البحر والأسفنج وخيار البحر مصادر غنية بهذه المركبات (Dawid وHofmann ،2014). تؤدي الصابونيات العديد من الانشطة البايولوجية بما في ذلك، الأنشطة المضادة للميكروبات والمضادة للالتهابات، والمضادة للأورام، وتعدّ مواد مقشعة ومزيلة للبلغم، وقد ثبت انها تسبب نقص الكوليسترول في الدم لكونها تمنع أو تقلل امتصاص الكلوكوز وبعض العناصر الغذائية في الأمعاء، لذلك تعد من المركبات الواعدة التي يمكن تطويرها إلى أدوية جديدة لمكافحة مرض السكري (Reichert واخرون،2019).

أجرى Sohi و Shri (2018) دراسة للمقارنة بين المركبات الفعالة في أوراق نوعين من البرتقال هما *C.sinensis* و *C. paradise* ،واستُعملتْ في التجربة اربعة مذيبات هي الماء والايثر والكلوروفوم وكحول الميثانول، اكّدتْ النتائج التي توصل لها الباحثان تفوق اوراق *C. sinensis* في محتواها من الصابونيات وكان الكحول المثيلي هو افضل مذيب للاستخلاص.

اوضح Al-Snafi (2016) في دراسة له،ان نسب المركبات الصابونية تزداد في اوراق وبذور الحمضيات بالمقارنة مع الاجزاء النباتية الاخرى،وان تركيز الصابونيات في الليمون*C.limon* بلغ 0.42 ملغم.100 غم$^{-1}$ بالمقارنة مع البرتقال *C.sinensis* الذي كان تركيز الصابونيات فيه اقل وبمقدار 0.30 ملغم.100 غم$^{-1}$.

2-2-6 الفيتامينات الذائبة في الماء The water-soluble vitamins

وهي مركبات عضوية معقدة توجد بنسب ضئيلة في الاغذية المختلفة،ويحتاج اليها الجسم بكميات قليلة للمحافظة على الوظائف الحيوية وتمثيل العناصر الغذائية،لا يستطيع الجسم تكوينها لذلك يتم امداده بها عن طريق المصادر الغذائية كالفواكه والخضراوات (Deshmukhواخرون،2020). تقسم الفيتامينات الذائبة في الماء الى قسمين : حامض الاسكوربيك (vitamin C) ومجموعة فيتامين B والتي تشمل Thiamin(B1)و Riboflavin (B2)و Niacin (B3) و Pantothenic acid (B5) و Pyridoxine (B6) و Biotin (B7) و Folic acid (B9) وCobalamin (B12) (Ciulu واخرون،2011).

تؤدي الفيتامينات دورها الفعال في الجسم اما بصورة حرة أو بهيئة عامل مساعدCoenzymes مع بعض الانزيمات (Farhangi واخرون،2014). ان لحامض الاسكوربيك فوائد عديدة فهو يدخل في تركيب الكولاجين والأنسجة الضامة والناقلات العصبية والهرمونات ويقوم بتحويل الكوليسترول

إلى أحماض الصـفراء، كذلك فأنه يعطي مناعة وحماية للجسـم من الأمراض مثل، فقر الدم وبعض أنواع السرطانات وامراض القلب والأوعية الدموية و يساعد على نمو الأنسجة الطبيعية و الشفاء من الجروح والحروق (Kashiouris واخرون،2020 و Colunga واخرون،2020).

تُعدّ الحمضيات وعصائرها من المصادر الغنية بالفيتامينات الذائبة،وخاصة فيتامين C،اذ اشارت وزارة الزراعة الامريكية United States Department of Agriculture في تقريرها السـنوي ان نسبة حامض الاسكوربيك تزيد عن64% في عصير البرتقال الطازج (USDA،2016). وفي دراسة قام بها Al-Snafi (2016) بيّن ان تركيز فيتامين C في الليمون بلغ 60.61 ملغم .غم$^{-1}$ مقابل 22.88ملغم.غم$^{-1}$ في نباتِ البرتقال.يشـتهر فيتامين C بخصـائصـه المضـادة للأكسـدة، والقدرة على كسـح أنواع الأكسـجين التفاعلية الضـارة، وبالتالي حماية خلايا وأنسـجة الجسـم من التلف التأكسـدي والخلل الوظيفي، فضـلاً عن دوره في دعم المناعة الصـحية، لذلك يزداد الاحتياج له كلما زادت شـدة العدوى (Zhao واخرون،2018 و Rani و اخرون،2019). في بداية شـــهر فبراير 2020 ومع اندلاع وانتشـار الفيروس التاجي COVID-19،أعلنت منظمة الصـحة العالمية (WHO) World Health Organization عن تحوله الى وباء يهدد العالم، فبدأ الناس بالبحث عن وسـائل يمكن أن تحميهم من الاصابة بالفيروس أو للتخفيف من آثاره بعد الاصابة، ومن أولى التجارب العشوائية التي قـام بهـا البـاحثون لاختبـار آثـار فيتـامين C في المرضـــى المصـــابين بهـذا الفيروس، أجرت Carr(2020) دراسـة تتضـمن علاج 140 مريضـاً بفيتامين C الوريدي وبلغت الجرعة 24 غم . يوم$^{-1}$ ولمدة 7 أيام وتوصـلت الدراسـة الى نتائج ايجابية لمكافحة انتشـار الفيروس وتقليل نسـبة الوفيات .

3-2 الجذور الحرة ومضادات الأكسدة والاجهاد التاكسدي:Antioxidant ، Free radicals and Oxidative Stress

1-3-2 -الجذور الحرة Free radicals

تعرّفُ الجذور الحرة بأنها ذراتٍ أو جزيئاتٍ أو أيوناتٍ لها إلكترون واحد أو اكثر غير مزدوج unpaired electron وتميل بشدة للتفاعل مع جزيئات أخرى للحصول على الالكترون المطلوب والوصول الى حالة الاستقرار (Gupta واخرون،2019) .ويمكن تصنيفها الى أنواع الأوكسجين التفاعلية Reactive oxygen species (ROS) وأنواع النيتروجين التفاعلية Reactive nitrogen species (RNS) (Carocho و اخرون،2018). حدث تقدم كبير في معرفة الجذور الحرة عام 1969 عندما تم عزل إنزيم Super Oxide Dismutase (SOD) والذي ألهم عددًا كبيرًا من الدراسات والبحوث التي ساهمت في معرفة الجذور الحرة (Biswas واخرون،2017) . إن إنزيم(SOD) هو من الإنزيمات التي تحفز تحلل أنيون الأوكسيد الفائق وتحوله إلى أوكسجين وبيروكسيد الهيدروجين, وهذه الانزيمات موجودة في جميع الخلايا الهوائية تقريبًا وفي السوائل خارج الخلية (Gupta ،2019) انزيم SOD من الانزيمات المعدنية Metal Coenzymes،أذ يمتلك واحد أو أكثر من الايونات المعدنية في موقعه الفعال لذلك صنف الى ثلاثة انواع :النوع الاول الذي يرتبط مع النحاس والزنك Copper/Zinc-SOD، وألنوع الثاني يرتبط مع الحديد Iron-SOD بينما ترتبط المجموعة الثالثة بالمنغنيز Manganese- SOD (Younus،2018) .أوضحَ choudhury واخرون(2017) في دراسةٍ لهم،أن عملية تكوين الجذور الحرة تتضمن ثلاث خطوات متسلسلة هي:

1-خطوة البدء Intiation: وهي بداية انتاج وتكوين الجذورالحرة .

$$RH \longrightarrow R^{*}+H^{*}$$

2-خطوة الانتشار Propagation :هذه الخطوة تتطلب تجديد جذورحرة بشكل متكرر نتيجة تفاعل متسلسل ولا تتوقف هذه الخطوة حتى الاكتمال .

$R^* + O_2 \longrightarrow ROO^{**}$
(peroxide)

3-خطوة الإنهاء Termination: ايقاف الجذور الحرة عند ارتباطها مع أحد مضادات الاكسدة.

$ROO^* + ROO^* \longrightarrow$ end products

2-3-1-1 مصادر الجذور الحرة Sources of free radicals

تنشـــأ الجذور الحرة في جســـم الانســـان من نوعين من المصـــادر الاولى مصـــادر داخلية Endogenous sourcesمثل نشـاط المايتوكوندريا والبيروكسـيسـومات Peroxisomes و التهاب الخلايا المناعية و مسـارات الاراشـيدونات Arachidonate pathways ونقص التروية وممارسـة النشاط الرياضي المفرط والضغط النفسي فضلا عن الشيخوخة والاصابة بالسرطان كلها مسؤولة عن إنتاج الجذور الحرة ذاتيا (Lobo واخرون،2010وMohammed واخرون,2015).

أما المصادر الخارجيةExogenous sources فتشمل الاشعاع (اشعة كاما والاشعة السينية والاشـعة فوق البنفسـجية) والتعرض للملوثات البيئية والمعادن الثقيلة مثل(Cd و Hg و Pb و As) كذلك فأن تناول بعض الادوية مثل، cyclosporine و gentamycin و tacrolimus قد تكون سـببا في انتاج الجذور الحرة، فضـلا عن المذيبات الكيميائية و المبيدات الحشـرية والكحول ودخان السـجائر، ولا يقل تأثير طريقة طبخ الطعام وتناول اللحوم المدخنة والزيت المسـتخدم اهمية عن المسـببات السـابقة(Pizzino واخرون،2017) .تتولد الجذور الحرة في خلايا الحيوانات والنباتات العليا كناتج طبيعي لعمليتي التنفس و التمثيل الغذائي، ومن أكثرالمصـادر اهمية هي سـلاسـل نقل الإلكترون في الميتوكوندريا اذ ما يقرب من 1-5%من جميع الأوكسـجين المسـتعمل في عمليات التمثيل الغذائي ينتج كجذور حرة (Kausar واخرون،2018).

2-1-3-2 -أهمية الجذور الحرة The importance of free radicals

من وجهة النظر التقليدية في مجال بيولوجيا الجذور الحرة، هي أن الجذور الحرة تعد سـامة، ويرجع ذلك في الغالب إلى الأضـرار المباشـرة التي تسـببها هذه الجذور للأهداف الحسـاسـة والمهمة داخل جسـم الإنسـان مما يؤدي إلى الإجهاد التأكسـدي الذي يعزز ويطور العديد من الاضـطرابات والأمراض المزمنة، لذلك يجب ان تتم إزالتها من أجسـامنا فور تكونها (Niki ،2016) .أصـبح من المعروف أن تكوين الجذور الحرة جزء من الجهاز المناعي الفطري، وأن الجذور الحرة لها علاقة بآليات الدفاع ضد الفيروسات والبكتريا والخلايا السرطانية،اما في حال تراكمها وعدم وجود توازن مع مضادات الاكسدة، فتصبح مضرة وذات تاثير سمي (Musumeci واخرون،2019).

يتم تكوين ROS في الخلايا النباتية في المقام الأول في البلاستيدات الخضر و الميتوكوندريا، وهذه الجذور يمكن ان تعمل على تنظيم التطور والتمايز ومسـتويات الأكسـدة والاسـتجابة للإجهاد البيئي والتفاعل مع الكائنات الحية الأخرى(Suleman و اخرون،2019).

بين Sies (2020) ان وجود ROS و RNS بتراكيز منخفضة أو معتدلة يمكن أن تكون بمثابة أسـلحة وانظمة دفاعية للمضـيف، اذ تقوم الخلايا البيض بأطلاق الجذور الحرة لتدمير الميكروبات الممرضة التي تغزو الجسم ومحاربة العدوى و تنبيه الدماغ.

أوضـح Sharma واخرون (2018) ان الجذور الحرة تسـيطر على اسـتمرار تدفق الدم عبر الشرايين، وتعمل بعضها كأشارات لتشغيل وإيقاف الجينات .و في دراسة أخرى للباحث Mittler (2017) بعنوان ROS are good بين ان النسـب المنخفضـة من الجذور الحرة هي عوامل ايجابية لتعزيز مناعة الجسم وأن خطورتها تكمن في زيادة تراكيزها وعدم وجود توازن مع مضـادات الاكسـدة

الانزيمية،على سـبيل المثال فان أوكسـيد النيتريك (NO) هو رسـول بين الخلايا لتعديل تدفق الدم والنشاط العصبي وايقاف الجلطة فضلا عن كونه عامل مهم في قتل مسببات الاورام داخل الخلايا.

2-3-2 مضادات الأكسدة Antioxidants

مضـادات الأكسـدة هي جزيئات في الخلايا تمنع الجذور الحرة من أخذ الإلكترونات والتسـبب في احداث أضـرار لكونها قادرة على إعطاء إلكترون لجذر حر دون زعزعة اسـتقرار نفسـها، وبالتالي إيقاف رد فعل سلسـلة الجذور الحرة (Ifeanyi ،2018)، أو هي مركبات قادرة على تأخير أو تثبيط تفاعلات الأكسـدة للدهون أو البروتينات أو الجزيئات الأخرى عن طريق تثبيط التفاعل الجذري الحر (البدء أو الانتشار) (Ismaeel واخرون،2019) .

1-2-3-2 تصنيف مضادات الاكسدة Classification of antioxidants

تقسـم مضـادات الاكسـدة الى طبيعية natural ومصـنعة synthetic،وتشـمل المضـادات الصـناعية عدد من المركبات التي تضـاف للاغذية لتأخير عملية الأكسدة أوللحد من التأثير الضـار للجذور الحرة (Rahman،2007) وأكثرها اسـتعمالا في الأطعمة هي مركبات Butyl Hydroxy Anisole (BHA) و Butyl Hydroxy Toluene (BHT) و Tert Butylated Hydro Quinone (TBHQ)،رغم ان العديد من مضـادات الأكسـدة الصـناعية السـائدة قد يكون لها تأثير سام ومسبب للامراض السرطانية (Carocho واخرون،2018).

بدأ اسـتعمال مضـادات الأكسـدة الصـناعية عام 1940 عندما اضـيف مركب BHA لتأخير الأكسدة في بعض المنتجات والاغذية، و في وقت لاحق من العام 1954 تمت الموافقة على BHT أيضًـا للاسـتعمال الغذائي في الولايات المتحدة الأمريكية وتم تسـويق TBHQ في عام 1971، ومع ذلك كان هناك قلق متزايد بشـأن الآثار المحتملة المسببة للسرطان لجميع هذه المركبات وبالتالي، لم

يعد BHA مســـموحًا بتطبيقه في الطعام في اليابان وعدد من البلدان الأخرى و TBHQ لا يزال ممنوعا في كندا واليابان والدول الأوروبية وفي الوقت ذاته تزايدت الرغبة العامة في استبدال مضادات الأكسدة المصنعة بأخرى طبيعية (Dacruz واخرون،2019).

أما مضـــادات الاكســـدة الطبيعية فيمكن تقســـيمها الى نوعين: انزيمية Enzymatic وغير انزيمية Non-Enzymatic (Chen واخرون،2019) .الإنزيمات الرئيسية المضادة للأكسدة التي تشـــارك مباشـــرة في تحييد ROS و RNS هي :ســـوبر اوكســـيد ديســـموتيز Super Oxide Dismutase (SOD) و انزيم الكـاتليز Catalase (CAT) و الكلوتـاثيون بيروكســـيـديز Glutathione Peroxidase(GPX) والكلوتاثيون المختزل Glutathione Reductase(GR) خط الدفاع الأول ضد الجذور الحرة (Kurutas،2015). تصنف مضادات الأكسدة غير الأنزيمية إلى مضـادات الأكسدة الأيضـية ومضـادات الأكسدة المغذية ، يتم إنتاج مضـادات الأكسدة الأيضـية عن طريق التمثيل الغذائي في الجســـم، مثل Lipoic acid و Bilirubin وL-ariginine و أنزيم Q10 و Melatonin ، في حين أن مضـــادات الأكســـدة المغذية هي مركبات لا يمكن إنتاجها في الجســـم ويجب توفيرها من خلال الأطعمـة أو المكملات الغذائيـة مثل فيتـامين E وفيتـامين C و الفلافونيدات والكاروتينات والأحماض الدهنية والاوميغا -3 فضلا عن بعض العناصر الصغرى مثل الخارصين والمنغنيز والسيلينيوم(Kapoor واخرون،2019).

2-2-3-2 آلية عمل مضادات الأكسدة:Mechanism of antioxidant action

بمجرد تكوّن الجذور الحرة يمكن أن يحدث رد فعل متسلسل، أذ يسحب أول جذر حر إلكترون من جزيء مستقر مما يزعزع استقراره ويحوله إلى جذر حر ثم يأخذ هذا الجزيء إلكترونًا من جزيء آخر، ويزعزع استقراره ايضا ويمكن لهذا التأثير ان يستمر ويؤدي في النهاية الى تعطيل واتلاف الخلية

بأكملها (Pham-Huy و اخرون، 2008) اذ يؤدي ذلك الى تكسير أغشية الخلايا وتغيير أو اتلاف الحامض النووي DNA (Phaniendra واخرون،2015) .

أشارت Kurutas(2015) في دراسة لها الى ان مضادات الاكسدة يمكن ان تعمل على ايقاف وكبح الجذور الحرة بعدة طرائق أهمها :

• تكسير سلسلة انتشار الجذور الحرة Chain-breaking propagation عن طريق منح إلكترون لتحقيق أستقرار الجذور الحرة كما في (α-Tocopherol) .

• كسح الجذور الحرة مباشرة Directly scavenging free radicals عن طريق الانزيمات المضادة للاكسدة كما في (SOD).

• خلْب المعادن الانتقالية التي تحفز عملية الاكسدة Chelating the transition metal catalysts كما في (Transferrin).

• منع تكوين الجذور الحرة Suppressing radical formation كما في (Glutathione).

2-3-3 ألتزنخ التأكسدي Oxidative Rancidity

يشير مصطلح ألتزنخ Rancidification الى عملية الاكسدة الدهنية التي تؤثر على الجودة و الصفات النموذجية للأغذية وخاصة المنتجات الحاوية على الدهون، ويحدث غالبا أثناء حصاد المنتجات الزراعية وتخزينها مما يسبب التلف الكيميائي و تدهور القيمة الغذائية واللون والنكهة للعديدمن المنتجات مثل اللحوم وزيت الطبخ ومشتقات الالبان(Shahidi وZhong ،2015) . يحدث فساد الاطعمة وتدهورها عندما تتاكسد الدهون جزئيا أو تتحلل مائيا ممايؤدي الى كسر الاواصر المزدوجة في الاحماض الدهنية غير المشبعة وتحولها الى الديهايدات أو كيتونات قصيرة السلسلة وذلك بفعل النشاط البكتيري أو عوامل الضوء والهواء ودرجة الحرارة والرطوبة والمواد

العضـوية النيتروجينية(2007,Rahman) . وبما أن الأكسدة الدهنية في الغذاء تشكل تحديًا للحفاظ على جودة الطعام، فإن الإجهاد التأكسـدي في الجسـم الحي يشـكل تحديا أخطر عندما تقوم الجذور الحرة باتلاف و أكسـدة الدهون الغشـائية والبروتينات الخلوية والإنزيمات والاحماض النووية، وبالتالي تعطيل الخلايا (Shahidi ،2000) . تتأكسـد الدهون من خلال سـلسـلة معقدة من التفاعلات التي تؤدي إلى ظهور عدد لا يحصـــى من المركبات المتطايرة و غير المتطايرة المســؤولة عن النكهات غير المرغوب بها حتى لو كانت بتراكيز ضئيلة في نطاق الأجزاء لكل مليار جزء (Kosowska و Majcher ،2017)

أُجريت العديد من البحوث والدراسات لتحسين الصفات الإجمالية للمنتجات وزيادة مدة الصـلاحية عن طريق تقليل أو منع الضـرر التأكسـدي ومن اهم الاسـتراتيجيات المتبعة لتأخير أكسـدة الجزيئات الحيوية هي دمجها مع مضادات الاكسدة خصوصاً المركبات التي يمكن الحصول عليها من مصادر طبيعية (الزبيدي،2013 و Chen واخرون،2019).

2-3-4 الاجهاد التأكسدي Oxidative stress

يُعرّف الاجهاد التأكســدي بأنه عدم التوازن بين المواد المؤكســدة (الجذور الحرة ونواتجها) من جهة ومضــادات الأكســدة من جهة اخرى، إذ يحدث الاجهاد التأكســدي نتيجة لاحتواء الخلايا على مواد مؤكســدة أكثر من المضــادات، وهذا بدوره يؤدي إلى تدمير الجزيئات الحيوية في الجســم مثل البروتينات والدهون والأحماض النووية، اي يحدث الاجهاد التأكسـدي عندما يتجاوز مسـتوى مركبات الأكســـدة قـدرة مضـــادات الأكســـدة على إزالتهـا (Arman واخرون ،2019 وCarvalho واخرون,2019).

ان أول من استعمل مصطلح الإجهاد التأكسدي هو العالم Sies (1985) إذ عرّفه على أنه اضطراب في التوازن بين تفاعلات مؤكسدة و تفاعلات مضادة للأكسدة مع إمالة التوازن بأتجاه الاول لينتج حالة غير مرغوب فيها. ويزداد الإجهاد التأكسدي في ظروف معينة، مثل تدخين التبغ و غسيل الكلى والتعرض لانواع الاشعاع والمواد الكيميائية فضلا عن الاصابة بالامراض العقلية المختلفة (Morimoto واخرون،2019). يسبب الاجهاد التأكسدي العديد من الحالات المرضية منها داء السكري والشيخوخة المبكرة والاضطرابات العصبية (مرض باركنسون ومرض الزهايمر والتصلب العصبي) وأمراض القلب والأوعية الدموية (تصلب الشرايين وارتفاع ضغط الدم) وأمراض الجهاز التنفسي وأعتام عدسة العين والضمور البقعي للشبكية ،فضلاً عن أنواع مختلفة من السرطانات مثل سرطان القولون والمستقيم والبروستات والثدي والرئة والمثانة (Dacruz واخرون،2019).

4-2 - طرائق تحليل وتشخيص المركبات الفعالة

Analyzing and diagnosing methods of active compounds

يتم تحليل المركبات النشطة بيولوجيًا الموجودة في المستخلصات النباتية من خلال التقنيات المختلفة مثل كروماتوجراف السائل عالي الكفاءة High-performance liquid chromatography (HPLC)، وكروماتوجراف الطبقة الرقيقةThin Layer Chromatography (TLC)، وكروماتوجراف الغاز Gas Chromatography (GC)، وكروماتوجراف العمود Column Chromatography(CC). فضلاً عن بعض الكواشف الفيزيائية مثل التحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراءFourier Transform Infra-Red spectroscopy (FTIR) والرنين المغناطيسي النووي

)(MS) Mass Spectrometry وقياس الطيف الكتلي (NMR) Magnetic Resonance
.(2020, Haque و Abubakar

كروماتوجراف السائل عالي الكفاءة(HPLC) وهي تقنية مهمة تستعمل للتقدير الكمي والنوعي للكثير من العينات الدوائية والبايلوجية، اذ تعدُ أكثر تنوعا وأمانا و ويفضل اعتمادها بسبب السرعة والدقة العالية في الكشف عن المواد وتحديد مكوناتها خاصة في تجارب الكيمياء الحيوية (Altemimi واخرون،2017) .

يتكون جهاز HPLC بشكل أساسي من عمود يحمل مواد التعبئة والتي تسمى بالطور الثابت Stationary phase، ومضخة متحركة عبر العمود وتسمى بالطور المتحرك mobile phase مع كاشف يبين وقت الإحتفاظ بالمادة القياسية المطلوب قياسها Diode Array Detector (DAD) . يسمى الوقت الذي تبقى فيه العينة داخل عمود الجهاز بوقت الإحتجاز Retention Time ويختلف هذا الوقت حسب نوع المادة المراد الكشف عنها (العينة) فضلا عن نوع المذيب وقطبيته , وتحدد تراكيز العينات المطلوب الكشف عنها بمقارنتها مع منحنيات المركبات المعيارية standers (Hadi،2017). أوضح Dzah واخرون(2020) أنَّ الاستعمال الواسع في الأونة الاخيرة لطريقة الامواج فوق الصوتية Ultrasonic Extraction (UAE) أظهر تفوقاً واضحاً مقارنة بالطرائق التقليدية الاخرى مثل النقع Maceration وجهاز السكسوليت Soxhlet، اذ تمّ اختصار الوقت اللازم للاستخلاص وزيادة كمية المستخلص الناتج فضلاً عن كونها، اي الـ (UAE) طريقة مناسبة للعديد من المركبات التي تتفكك بالحرارة العالية، وان الترددات المناسبة للاستخلاص تتراوح بين 20 –2000 كيلو هيرتز في حين تسبب الترددات التي تفوق هذه القيمة تحطيم البنى الهيكلية للفينولات وتحويلها الى جذور حرة .

في دراسـةٍ أُخرى اجريتْ من قبل Iglesias-Carres واخرون (2019) لتشـخيص اكثر من 30 مركب فينولي من البرتقال *C.sinensis* المزروع في مناطق مختلفة من اســـبانيا ومن خلال تطبيق المنهجية المثلى وتحليل المســتخلصــات بواســطة HPLC، بيّنت النتائج التي توصــل لها الباحثون وجود مركب الهســـبردين Hesperidin بأعلى تركيز مقارنة بالمركبات الفينولية الاخرى، وكذلك تمّ اثبات أن مناطقِ الزراعة الجغرافية تؤثر على نسبِ وخصائصِ المركبات الفينولية للبرتقال.

3- المواد وطرائق العمل Materials and Methods

3-1 الأجهزة والمواد الكيميائية Devices and chemical materials

3-1-1 الاجهزة المستعملة في الدراسة Devices that used in this study

استعملت في هذه الدراسة كل من الأجهزة والادوات الموضحة في جدول (1).

جدول (1): الأجهزة والأدوات المستعملة في الدراسة

ت	اسم الجهاز	الشركة المصنعة	المنشأ
1	فرن كهربائي (Electric oven)	Clay Adams	Germany
2	مطحنة كهربائية (Electric blender)	Mollinex	France
3	جهاز الامواج فوق الصوتية(Ultra-sonic)	Branson sonifier	USA
4	مقياس الطيف الضوئي(Spectrophotometer)	Shimadzu 160- A	Japan
5	كروماتوجراف السائل عالي الكفاءة (HPLC)	Shimadzu 10 -AV	Japan
6	جهاز النبذ المركزي (Centrifuge)	Kubota 2100	Japan
7	حمام مائي (Water bath)	Memmert	Germany
8	جهاز تقطير الماء (Ultrapure water)	Millipore	USA
9	ميزان حساس (Sensitive balance)	Kern	Germany
10	جهاز المبخر الدوار(Rotary evaporater)	Büchi	England
11	براد (ثلاجة) (Refrigerator)	Gosonic	Turkey
12	مضخة تفريغ(Vacuum pump)	Büchi	England
13	جهاز تحكم تفريغ(Vacuum controller)	Büchi	England
14	مقياس الرقم الهيدروجيني (pH meter)	Orient	USA
15	جهاز خلاط (Ultra Turrax)	Millipore	USA

2-1-3 المواد المستعملة Used Materials

استعملت في هذه الدراسة المواد المبينة في جدول (2):

جدول (2): المواد المستعملة في الدراسة

ت	اسم المادة	الشركة المصنعة	المنشأ
1	الجذر الحر المصنع (DPPH)	BDH	England
2	(TFA) Trifluoroacetic acid	BDH	England
3	ن -هكسان (n-Hexan)	BDH	England
4	حامض الفسفوريك(Phosphoric acid)	BDH	England
5	كحول مثيلي (Methanol)	BDH	England
6	كاشف فولن(Folin-Reagent)	Fluka	Germany
7	كحول اثيلي (Ethanol)	BDH	England
8	حامض الهيدروكلوريك (HCl)	BDH	England
9	امونيا (Amonia)	Fluka	Germany
10	الكلوروفورم(Chlorophorm)	Fluka	Germany
11	فحم (Charcoal)	Fluka	Germany
12	الأسيتون (Aceton)	Fluka	Germany
13	(BHT)butylated hydroxytoluene	Fluka	Germany
14	اسيتونتريل (Acetonitrile)	Fluka	Germany
15	حامض الغاليك (Gallic acid)	Fluka	Germany
16	كاربونات المغنيسيوم($MgCO_3$)	Fluka	Germany
17	ثنائي اثيل ايثر (Diethyl Ether (DE	BDH	England
18	كلوريد الحديديك ($FeCl_3$)	BDH	England
19	نتريت الصوديوم ($NaNO_2$)	BDH	England
20	هيدروكسيد الصوديوم(NaOH)	BDH	England
21	محلول منظم phosphate buffer	BDH	England
22	نترات الالمنيوم $Al(NO_3)_3$	BDH	England
23	حامض ثلاثي كلورو أسيتيكTrichloroacetic acid	BDH	England

3-2 طرائق العمل Methods

3-2-1 جمع وتهيئة العينات Samples collection and preparation

أُختير نبات البرتقال نوع ***C. sinensis*** لاجراء التجربة . اذ جُمعت الثمار الناضجة من 3 مواقع من بساتين ناحية العبارة – مدينة بعقوبة – ديالى –العراق والتي تقع على دائرة عرض (33,84369°) وخط طول (44,69985°) في شهري كانون الثاني وشباط –2020.

جُمعت الاوراق والازهار في شهر اذار من العام نفسه , وتم تصنيفها في المعشب الوطني العراقي (AL-Anbari ،2014). بعد غسل الاوراق والازهار والثمار بالماء المقطر عدة مرات لازالة الشوائب والاتربة , تم تقشير الثمار وفصل الاجزاء المطلوبة والتي هي القشرة الخارجية للثمار (Exocarp) والقشرة الوسطى للثمار (Mesocarp) والعصير (Juice) و البذور (seeds) . استُعملت بعض الثمار للحصول على العصير الطازج , بينما جُففت العينات المتبقية في فرن كهربائي بدرجة حرارة 40° ولمدة 8 ساعات ثم طُحنتْ باستعمال مطحنة كهربائية , وتم حفظ المسحوق الجاف في براد بدرجة حرارة 4° لحين أجراء عمليات الاستخلاص(Molan واخرون,2016).

3-2-2 طرائق الاستخلاص Methods of extraction

تم استخلاص ستة انواع من المركبات الوظيفية في نبات البرتقال وهي الفينولات والقلويدات والكاروتينات والتانينات والصابونيات فضلا عن الفيتامينات الذائبة في الماء .طبقت طريقة الاستخلاص بالموجات فوق الصوتية Ultrasonic Extraction (UAE) في جميع تجارب الاستخلاص وذلك باستعمال جهاز الموجات فوق الصوتية نوع Branson sonifier الموضح في صورة (1).



صورة (1) جهاز الموجات فوق الصوتية(Branson Sonifier (USA

3-2-2-1 استخلاص المركبات الفينولية Extraction of phenolic compounds

تم استخلاص الفينولات وفقاً لما ذكره Mattila و Kumpulainen (2002) وذلك باذابة 1 غم من مسحوق كل من الأجزاء النباتية الخمسة (الاوراق والازهار والقشرة الخارجية للثمار والقشرة الوسطى للثمار والبذور) في 20 مل من الهكسان وذلك لازالة الطبقة الدهنية ,و مزج 1 مل من العصير ومع نفس الكمية من المذيب, اما الطبقة العضوية للعينات المذكورة اعلاه فقد تمت اذابتها في 100 مل من الميثانول : الماءالمخفف بنسبة 80: 20 بالتتابع.

تعرض المستخلص لصوت فائق في جهاز الموجات فوق الصوتية عند 60 % من دورات العمل لمدة 25 دقيقة وبدرجة حرارة 25 مئوية متبوعة بالطرد المركزي عند 7500 دورة . دقيقة$^{-1}$ ولمدة 15 دقيقة. تمت معالجة المادة الطافية لكل عينة بالفحم charcoal لإزالة الأصباغ ثم جُففت تحت التفريغ باستعمال المبخر الدوار.

أُجريت إعادة تعليق للعينات المجففة في 1 مل من الميثانول ومن ثم تم تمرير الخليط من خلال مرشح دقيق 2.5 ميكرون وخزن المستخلص عند 4 درجات مئوية لاجراء المزيد من التحليل . تم حقن 20 ميكرولتر من العينة في عمود HPLC وفقًا للظروف المثلى.

2-2-2-3 استخلاص القلويدات Extraction of alkaloids

تم الاستخلاص وفقاً لطريقة Monsef-Esfahani وأخرون(2008) وذلك بأخذ 1 غم من مسحوق كل عينة من العينات الخمس و 1 مل من العصير و تنقيعها وترشيحها و لثلاث مرات في 25 مل من كحول الميثانول ولمدة 1 ساعة. رشح المستخلص بعد ذلك وجفف في مبخر دوار تحت التفريغ عند درجة حرارة 45 درجة مئوية , ثم تمت معالجة المتبقي من التجفيف للعينات الستة المذكوره اعلاه باستخدام 25 مل من محلول حامض الهيدروكلوريك 2% حجم : حجم وبعد الترشيح تم تنقيعه وترشيحه ولثلاث مرات باستخدام 10 مل من إيثر البترول لإزالة الشوائب الملوثة والدهون . مزجت طبقة الحامض المائي مع الأمونيا للوصول إلى الرقم الهيدروجيني 10 و تم استخلاصها لثلاث مرات باستخدام 25 مل من الكلوروفورم ومن ثم ازيل المذيب العضوي عن طريق التبخير للحصول على خلاصة قلويدية كاملة. اذيب المتبقي النهائي الذي تم الحصول عليه في 10 مل من الميثانول ورشح من خلال مرشح بولي بروبيلين 0.45 ميكرومتر و حقن 20 ميكروليتر منه في عمود الـ HPLC في ظل ظروف الفصل المثلى وبالمقارنة مع المعيار الأصلي.

3-2-2-3 - استخلاص الكاروتينات Extraction of carotenoids

تم الاستخلاص وفقا لما ذكره Peñarrieta واخرون (2007) بخلط 10 غم من المسحوق الجاف لكل جزء من الاجزاء الخمسة لنبات البرتقال و10 مل من العصير مع 100 مل أسيتون يحتوي على 1 غم MgCO3 و 5 ملغم من 2،6–ثنائي–ثلاثي–بيوتيل 4–ميثيل فينول (BHT) وخلطت باستعمال جهاز خلاط (Ultra Turrax) . بعد الترشيح, اجريت عملية استخلاص للمتبقي (الراسب) باستعمال ميثانول : أسيتون (1:1) حجم الى حجم , واستمر الاستخلاص حتى أصبح الراسب عديم اللون. نقل المستخلص الكامل إلى قمع فصل يحتوي على حجم مساوٍ من الإيثر الثنائي Diethyl Ether (DE) و تمت إضافة محلول NaC1 المشبع لحين تكون طبقتين . تمت إزالة الايثر وغسل المستخلص بالماء لثلاث مرات ثم تم تبخيره حتى الجفاف تحت جو من النيتروجين في حمام مائي متحكم فيه حراريًا(40 درجة مئوية) ثم اذيبت البقايا المجففة في 3 سم^3 من الماء و وخلطت مع حجم مساوٍ من 10% محلول الميثانول مع هيدروكسيد البوتاسيوم KOH . تمّ خزن الخليط القلوي طوال الليل في الظلام تحت جو من النيتروجين عند درجة حرارة 25 مئوي ثم نُقل بعدها الخليط القلوي الباقي إلى قمع فصل مملوء بـ 200 مل من DE ومحلول NaCI المشبع.تم استخلاص الطور المائي بـ DE ودمج مرحلتي الأيثر كلاهما وغسلها بالماء المقطر. بعد التبخير ,تمت إعادة تعليق مستخلص الكاروتين المجفف في 1.0 مل من الميثانول عن طريق الدوامة (1965,Davies)ثم رشح الخليط من خلال مرشح 2.5 ميكرومتر وتم تخزينه بدرجة حرارة 4 درجات مئوية. حقنت 20 مايكرولتر من العينة في عمود HPLC وفقا لظروف الفصل المثلى .

4-2-2-3 –استخلاص التانينات Extraction of tannins

تم الاستخلاص وفقاً للطريقة المذكورة في Amarowicz و اخرون (2004) ,وذلك بوضع 1.0غم من المسحوق الجاف لكل جزء من اجزاء البرتقال و 1.0 مل من العصير في قوارير ذات ألوان داكنة ومزجها بـ 95 % من الإيثانول , و من ثم تم ادخالها في حمام مائي دوار عند 50 درجة مئوية لمدة 30 دقيقة, تم ترشيح المزيج من خلال ورق الترشيح Whatman No. 1 وكررت عملية الاستخلاص لثلاث مرات .تم تبخير المواد الطافية المتجمعة تحت التفريغ عند 40 درجة مئوية باستعمال المبخر الدوار مع مضخة تفريغ وجهاز تحكم تفريغ . في عمود كروماتوجرافي LH-20 تم تعليق 4.0 غم من المادة الخام في 5.0 مل من 95 % حجم الى حجم من الإيثانول ثم تم تطبيقه على عمود كروماتوجرافي (45 × 180) ملم معبأ بحبيبات الادمصاص Sephadex LH-20 تمت موازنته مع 95 % من الإيثانول.

أُجريت عملية غسل للفينولات المنخفضة الوزن الجزيئي بشكل شامل من العمود باستعمال 1200 مل من الإيثانول اما أجزاء التانين فقد تمت إزالتها من العمود باستعمال أربعة أجزاء من 150 مل من الاسيتون بتركيز 50 %. تمت ازالة الأسيتون من الأجزاء الاربعة تحت التفريغ عند 35 درجة مئوية باستعمال المبخر الدوار . تم حقن 20 ميكرولتر من العينات بتركيز 25 ميكروغرام . مل$^{-1}$ في عمود HPLC باستعمال حاقن يدوي وضُبِط الكاشف Diode Array Detector(DAD)على طول موجي 280 نانومتر .

3-2-2-5 استخلاص الصابونيات Extraction of Saponins

تم الاستخلاص وفقا لطريقة Gao واخرون(2002) عن طريق خلط 2.0 غم من مسحوق كل من الاجزاء الخمسة لنبات البرتقال و 2.0 مل من العصير مع 150 مل من 70 % ميثانول في دورق ووضعه في حمام بالموجات فوق الصوتية لمدة 4 ساعات وعند حرارة 80 درجة مئوية , ثم اجريت عملية الاستخلاص وكررت لثلاث مرات إضافية من أجل زيادة كفاءة عملية الاستخلاص. وضعت المستخلصات التي تم الحصول عليها في جهاز الطرد المركزي 2580 دورة .دقيقة$^{-1}$ ولمدة 10 دقائق وتم تبخير الراشح حتى الجفاف باستعمال مبخر دوار عند 50 درجة مئوية. اذيبت البقايا التي تم الحصول عليها في 50 مل من الميثانول بتركيزه 70 % ورشحت من خلال مرشح ذات غشاء نايلوني 0.2 ميكرون لاجراء تحليل الـ HPLC. كان حجم الحقن 20 ميكرولتر وتم إجراء فصل متساوي الحرارة عند 30 درجة مئوية. تم الكشف عن المركبات من خلال مقارنة أوقات الاحتجاز لمكونات العينة مع محاليل قياسية من escins , اما التحديد الكمي فقد تم من خلال مقارنة منطقة الذروة للعينة مع محاليل قياسية بتركيز 1 ملغم. مل$^{-1}$, والتي تم تحضيرها مسبقا عن طريق إذابة 10 ملغم من كل مركب نقي escin Ia و escin Ib و isoescin Ia في 10 مل ميثانول.

3-2-2-6 –استخلاص الفيتامينات الذائبة Extraction of soluble vitamins

جرى الاستخلاص وفقاً لطريقة Qian و Sheng (1998) وذلك بأذابة 1 غم من المسحوق المجفف لكل عينة من العينات الـ 5 في 10 مل من محلول ميثانول: ماء المخفف بنسبة 60:40 حجم الى حجم فضلا عن خلط 1 مل من العصير مع 10 مل من محلول ميثانول: ماء وبنفس نسبة التخفيف المبيّنه اعلاه. رُجّتْ العينات في حمام بالموجات فوق الصوتية لمدة 10 دقائق, ثم تم

تبخير المذيب بتيار سائل من N_2 لحين وصول حجم العينات الى ما يقرب من 0.5 مل . أضيف بعض الطور المتحرك للوصول إلى 1 مل وتم إعادة تعليق العينات في 1 مل من الميثانول عن طريق دوامة ثم رشح الخليط . حقن 20 ميكرولتر في عمود الـ HPLC ثم تم تحديد تركيز كل مركب عن طريق مقارنة منطقة الذروة للمعيار مع تلك الخاصة بالعينات.

3-2 تحليل وتشخيص المركبات الفعالة Analysis and diagnosis of active compounds

تم تحليل المركبات الفعالة في جميع المستخلصات بالاعتماد على تقنية الفصل السريع Fast Liquid Chromatographic (FLC) ,وذلك باستعمال جهاز HPLC نوع Shimadzu 10AV- LC وذلك مبين في صورة (2) . تم الحصول على المعايير القياسية Standards لكل من الفينولات والقلويدات والكاروتينات والتانينات والصابونيات والفيتامينات الذائبة في الماء , واجري الفصل وفقا للظروف المثلى للمركبات .



صورة (2): جهاز الفصل بتقنية الكروماتوجراف السائل عالي الكفاءة

(2017,Hadi) Shimadzu 10AV- LC

1-3-2-3 ظروف الفصل والتشخيص Conditions of separation and diagnosis

تباينت ظروف التشخيص لكل نوع من المركبات الفعالة في مستخلصات نبات البرتقال وذلك بالاعتماد على نوع الكاشف و نوع العمود المستعمل ودرجة الحرارة وعامل التخفيف فضلا عن مكونات الطور المتحرك, وذلك مبين في جدول (3).

جدول (3): ظروف تشخيص النموذج القياسي لبعض المركبات الفعالة لنبات البرتقال

الظروف	المركبات الفعالة		
	الفينولات	القلويدات	الكاروتينات
الطور المتحرك	solvent A: solvent phosphoric B: acetonitrile methanol: 0.1% phosphoric acid (1/6/3) volume	solvent A: 0.01M phosphate buffer pH 6.2 solvent B: acetonitrile	solvent A : methanol/water, 9 : 1 v/v solvent B: acetone
سرعة جريان الطور المتحرك	1.0مل .دقيقة$^{-1}$	1.0مل .دقيقة$^{-1}$	1.2مل.دقيقة$^{-1}$
عدد مرات التخفيف	100مرة	20 مرة	50 مرة
درجة حرارة الفصل	25 م	37م	25م
نوع الكاشف	UV عند الطول الموجي 280 نانومتر	UV عند الطول الموجي 280 نانومتر	UV عند الطول الموجي 440 نانومتر
نوع العمود	PhenomenexC-18	PhenomenexC- 18	phenomenex C-18
الطول × قطر العمود	50 × 2.0 mmI.D	50 × 4.6 mmI.D	100 x 4.6 mm I.D

تابع الى جدول (3): ظروف تشخيص النموذج القياسي لبعض المركبات الفعالة لنبات البرتقال

الظروف	المركبات الفعالة		
	التانينات	الصابونيات	الفيتامينات الذائبة في الماء
الطور المتحرك	45% (v:v) acetonitrile with 0.1% (v: v) TFA	acetonitrile and 0.10% orthophosphoric acid	solvent A: 0.01 M : potassium phosphate pH 6.2 :5Mm octane sulphonate solvent B, acetonitrile
معدل جريان الطور المتحرك	1.5مل.دقيقة$^{-1}$	1.1مل.دقيقة$^{-1}$	1.5مل.دقيقة$^{-1}$
عدد مرات التخفيف	100 مرة	20مرة	700مرة
درجة حرارة الفصل	37م	37م	40 م
نوع الكاشف	UV عند الطول الموجي 280 نانومتر	UV عند الطول الموجي 220 نانومتر	UV عند الطول الموجي 270 نانومتر
نوع العمود	TSK G2000SWXL: 3ìm particle size	Zorbax SB-ODS – 150	STR ODS-II
الطول × قطرالعمود	300 × 7.8 mmI.D	50 × 4.6 mmI.D	50 × 4.6 mmI.D

2-3-2-3- حساب تراكيز المركبات الفعالة : Calculating the concentrations of the active compounds

تم حساب تراكيز المركبات الفعالة في كل عينة وذلك بمقارنة منطقة الذروة لكل مركب مع منطقة الذروة للمركب القياسي واستخراج التركيز اعتمادا على المعادلة المبينة ادناه:

$$\text{تركيز المادة} = \frac{\text{مساحة حزمة النموذج}}{\text{مساحة حزمة القياسي}} \times \text{التركيز القياسي} \times \text{عدد مرات التخفيف}$$

وتم حساب جميع التراكيز بوحدة ملغم .غم$^{-1}$ وزن جاف لكل عينة (حسين واخرون,2018).

3-3 تقدير المحتوى الفينولي الكلي و المحتوى الفلافونيدي الكلي في بعض اجزاء نبات البرتقال Estimation of (TPC) and (TFC)in some parts of *Citrus sinensis*

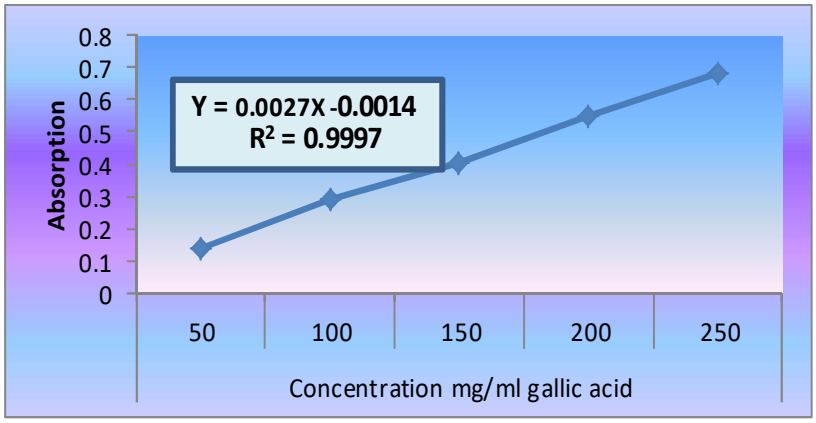
1-3-3 تقدير المحتوى الفينولي الكلي: Estimation of the Total Phenolic Content

تم تقدير المحتوى الفينولي لمستخلصات كل عينة حسب طريقة Singleton واخرون (1999) مع بعض التعديلات اذ تم استعمال حامض الغاليك احادي الهيدرات كمعيار لتمثيل المركبات الفينولية في نبات البرتقال وقد تم اذابة 10 غم من المركب القياسي في 50 مل من الميثانول لإعطاء المحلول الاساس stock solution وبتركيز 200 ملغم . مل$^{-1}$.

1-1-3-3 إعداد منحنى المعايرة القياسي لحامض الغاليك Preparation of the standard titration curve of gallic acid

تم أخذ 5 و 10 و 15 و 20 و 25 مل من المحلول الاساس لحامض الغاليك في 5 قوارير حجمية سعة 50 مل واضيف لها 2.5 مل من محلول مخفف من كاشف فولن Folin-Ciocalteau phenol reagent وبنسبة تخفيف 1: 10 حجم الى حجم بالماء المقطر و 2 مل من محلول 7.5 % وزن الى حجم من كربونات الصوديوم (Na_2CO_3) لكل قارورة وأُكمِل الحجم باستعمال الماء المقطر وذلك لعمل سلسلة من التراكيز, وهي 50 و 100 و 150و 200 و 250 ملغم . مل$^{-1}$.

تم اعداد خليط من الكواشف والماء واستُعملت باعتبارها blank. حفظت المحاليل الناتجة في حمام مائي عند 45 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة. بعد ذلك، تمت قراءة الامتصاصية عند 765 نانومتر باستعمال مقياس الطيف الضوئي ثم رسم منحنى معايرة قياسي للامتصاصية (y) مقابل التركيز (x). وذلك موضح في شكل (2)



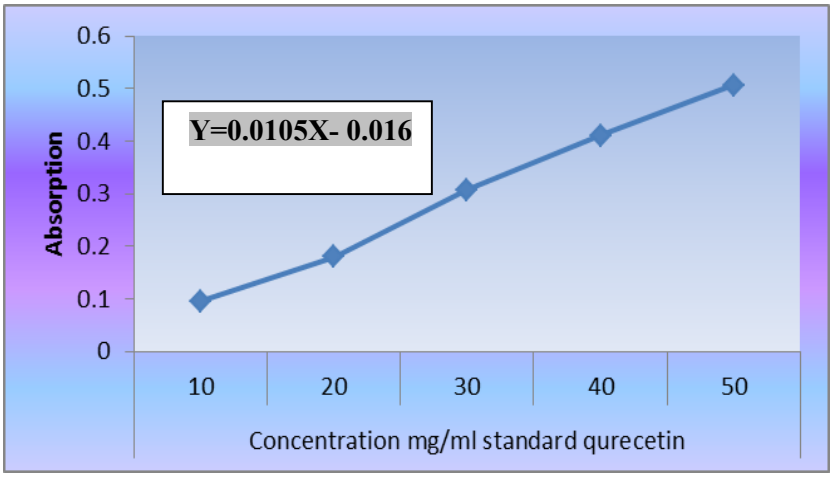
شكل(2) المنحنى القياسي لحامض الغاليك

3-3-1-2- تحضير المستخلصات النباتية: Preparation of Plant Extracts

تم تحضير مستخلصات اجزاء نبات البرتقال المختلفة وذلك بمزج 10 ملغم من كل من العينات المجففة للاجزاء الخمسة (10 مل من العصير) مع 10 مل من كحول الميثانول. وضع1 مل من كل محلول بعد ذلك في دورق حجمي سعة 10 مل وتم إجراء تطوير اللون بنفس الطريقة المتبعة في اعداد منحنى المعايرة. تم بعد ذلك قياس امتصاصية محاليل الاختبار عند 765 نانومتر مقابل الـ blank (ماء مقطر), تم بعد ذلك تحديد تركيز الفينول في عينات الاختبار من خلال الاستقراء من منحنى المعايرة القياسي لحامض الغاليك وحسابه على أنه ملغم واحد من مكافئات حامض الغاليك لكل غرام من المادة النباتية الجافة (Gouveia و Castilho, 2011).

2-3-3- تقدير المحتوى الفلافونيدي الكلي : Estimation of total flavonoids content

اعتمدت طريقة Ghasemi واخرون (2009) مع بعض التعديلات . اذ تم اذابة 10 غم من الكيورسيتين في 50 %إيثانول في دورق قياس سعة 50 مل للحصول على محلول قياسي بتركيز 0.2 ملغم .مل$^{-1}$. مُزج 1 غم من الاجزاء الجافة و1 مل من العصير مع20 مل من 60% من الإيثانول المائي باستخدام حمام الموجات فوق الصوتية لمدة 20 دقيقة عند 45 درجة مئوية ثم تم ترشيح المستخلص وإزالة لونه بواسطة 10 مل من إيثر البترول لعدة مرات حتى تصبح المادة الطافية عديمة اللون. بعد إزالة اللون تم تنقيط 20 مل من المحلول المستخلص في أنبوب حجمي سعة 50 مل وخلطه مع 1 مل من 5% من نتريت الصوديوم $NaNO_2$ و لمدة 6 دقائق. تم اضافة 1 مل من نترات الالمنيوم $Al(NO_3)_3$ 10% , وبعد مرور 6 دقائق على التفاعل، اضيف 1 مل من هيدروكسيد الصوديوم NaOH 4% إلى المحلول وخلط جيدًا. تم تعديل الحجم النهائي لكل عينة من العينات النباتية إلى 25 مل باستعمال 60% إيثانول مائي. حُضن خليط المحاليل المستخلصة في درجة حرارة الغرفة لمدة 15 دقيقة ثم تم قياس امتصاص الخليط لكل عينة بواسطة مقياس الطيف الضوئي عند طول موجي 510 نانومتر. تم تقدير المحتوى الكلي للفلافونيد TFC على أنها Quercetin ملغم .غم$^{-1}$ وزن جاف لكل عينة وتم إنشاء منحنيات المعايرة من 5 نقاط لـ Quercetin وذلك باستعمال خمسة تراكيز مختلفة, وهي 1.0و 2.0 و3.0 و4.0 و 5.0 ملغم . لتر$^{-1}$وتم قياس الامتصاصية عند طول موجي510 نانومتر,وذلك موضح في شكل (3).



شكل(3)المنحنى القياسي لـ Quercetin

3- 4 تقييم الفعالية المضادة للاكسدة: Evaluation of antioxidant effectiveness

3-4-1- اختبار كسح الجذور الحرة Radical scavenging test using DPPH

تم اختبار نشاط الكسح الجذري وذلك باستعمال الجذر الحر المصنع DPPH ووفقًا للطريقة التي وصفها Thaipongواخرون (2006) مع تعديل طفيف. تم تحضير المحلول الاساس من الجذر الحر وذلك بإضافة 24 ملغم من DPPH الى 100 مل من الميثانول، بينما تم تحضير محلول DPPH العامل بخلط 10 مل من المحلول الاساس DPPH مع 45 مل من الميثانول. مزج 500 ميكرولتر من كل عينة مع 500 ميكرولتر من محلول DPPH العامل وحضن الخليط لمدة ساعتين في الظلام وعند 25 درجة مئوية .تم بعدها تحديد امتصاص الخليط عند طول موجي 515 نانومتر . اعيدت التجربة ثلاث مرات وتم ايجاد المتوسط الحسابي لقيم DPPH والتعبير عن النتائج كقيمة EC50 لمقايسة DPPH بالملغم.مل$^{-1}$.

3-4- 2 اختبار اختزال الحديديك Ferric reducing antioxidant power test (FRAP)

يعد اختبار قوة مضادات الأكسدة الحديديك (FRAP) طريقة أخرى لتحديد النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص النباتي, اذ يشير الاختبار إلى قوة مضادات الأكسدة باعتبارها مخفضات في

تفاعل قياس الألوان المرتبط بالأكسدة. يستعمل هذا الاختبار أيضًا لتحديد قدرة مضادات الأكسدة في العينة لاختزال أيونات الحديديك (Fe^{+3}) إلى أيونات الحديدوز (Fe^{+2}) عند درجة حموضة منخفضة 3.6 pH (Azman واخرون ,2019) . تم قياس خاصية الاختزال حسب طريقة Omoba واخرون (2015) مع بعض التعديلات. تم خلط 2.5 مل من المستخلص الايثانولي لكل عينة من العينات الست مع 2.5 مل من محلول منظم sodium phosphate buffer (0.2 M، pH 6.6) و 2 مل من 1 % فيريسيانيد البوتاسيوم K3Fe (CN) وحضن الخليط عند 50 درجة مئوية لمدة 20 دقيقة, ثم اضيف 2 مل من 10%حامض ثلاثي كلورو أسيتيك Trichloroacetic acid إلى الخليط ووضع في جهاز الطرد المركزي عند 650 دورة . دقيقة$^{-1}$ ولمدة 10 دقائق. بعد الانتهاء من عملية الطرد المركزي, اخذ 2 مل من الطبقة العليا من المحلول وخلط مع 5 مل من الماء منزوع الأيونات 1 مل من 1 % FeCl3 وقيست الامتصاصية على طول موجي مقداره 700 نانومتر.

3-5 التحليل الإحصائي Statistical Analysis

أُجري التحليل الإحصائي باستعمال برنامج SPSS v.22 و Excel 2013 , اذ وصفت البيانات الكمية باستعمال المتوسط الحسابي والخطأ المعياري (Mean± Std. Error). تم إيجاد معامل الارتباط (R) لمعرفة نوع وقوة العلاقة بين المتغيرات. وقد أُجري الاختبار عند مستوى معنوية $P < 0.05$ (Olyad واخرون,2020).

4- النتائج والمناقشة Results and Discussion

4-1 تقـدير تراكيزالمركبـات الفعالــة فــي بعـض أجـزاء نبـات البرتقـال(ملغم.غـم$^{-1}$) وزن جاف Estimation of the active compounds concentrations in some parts of *Citrus sinensis*

يلاحظ من خلال النتائج المعروضة في جدول (4) ان أعلى تركيز للمواد الفعالة في نبات البرتقال كان للفيتامينات الذائبة في الماء والذي بلغ 442.28 ملغم .غم$^{-1}$ يليه الفينولات بتركيز 122.13 ملغم .غم$^{-1}$ ثم الكاروتينات والتانينات والقلويدات والصابونيات وبتراكيز بلغت 27.67 و 20.78 و10.81 و 1.29 ملغم.غم$^{-1}$ بالتتابع. تشير النتائج ايضا الى وجود تباين في تراكيز المركبات الفعالة في الأجزاء المختلفة لنبات البرتقال. أذ سجلت الازهار اعلى تركيز للفينولات بلغ مقداره 29.14 ملغم .غم$^{-1}$ مقارنة بأوطأ تركيز تم الحصول عليه من الاوراق والذي بلغ 16.55 ملغم .غم$^{-1}$,اما بالنسبة للقلويدات فقد سجلت البذور اعلى تركيز بلغ 4.27 ملغم .غم$^{-1}$ مقارنة بأوطأ تركيز سجل في العصير والذي بلغ 0.46 ملغم .غم$^{-1}$.

جدول (4) تراكيز المركبات الفعالة في بعض اجزاء نبات البرتقال(ملغم.غم$^{-1}$) وزن جاف

اسم المركب	تركيز المركب						التركيزالكلي
	الاوراق	الازهار	القشرةالخارجية للثمار	القشرة الوسطى للثمار	العصير	البذور	
الفينولات	16.55	29.14	17.05	17.16	18.62	23.61	122.13
القلويدات	1.72	1.71	1.26	1.39	0.46	4.27	10.81
الكاروتينات	5.58	4.91	7.94	3.42	1.83	3.99	27.67
التانينات	1.29	0.37	7.87	7.54	0.11	3.60	20.78
الصابونيات	0.53	0.26	0.13	0.18	...	0.19	1.29
الفيتامينات الذائبة في الماء	62.75	52.03	76.18	56.55	103.62	91.15	442.28

سجلت الكاروتينات والتانينات أعلى تركيز لها في القشرة الخارجية للثمار بلغ 7.94 و 7.87 ملغم.غم $^{-1}$ بالتتابع ، بينما سجل العصير اوطا تركيز لهما بلغ 1.83 و0.11 ملغم. غم$^{-1}$ بالتتابع. حققتْ الاوراق أعلى تركيز لها من الصابونيات والذي بلغ 0.53 ملغم.غم$^{-1}$ مقارنة باوطأ تركيز تمّ الحصول عليه من القشرة الخارجية للثمار بلغ 0.13 ملغم.غم$^{-1}$ بينما لم تتواجد الصابونيات في عصير الثمار. سجلت الفيتامينات الذائبة في الماء اعلى تركيز لها في عصير البرتقال اذ بلغ مقداره 103.62 ملغم .غم$^{-1}$ مقارنة بالازهار والتي سجلت اوطأ تركيز من الفيتامينات الذائبة في الماء والذي بلغ 52.03 ملغم.غم$^{-1}$ (جدول رقم 4) .

4-1-1-تقدير تراكيز المركبات الفينولية

Estimation of phenols compounds concentrations

تشير النتائج المبينة في جدول (5) الى وجود تباين في تراكيز المركبات الفينولية ،أذ تفوق مركب الـHesperidin على باقي المركبات الفينولية في نبات البرتقال وبتركيز بلغ 44.91 ملغم .غم$^{-1}$ مقارنة بمركب الـ Diosmetin و الذي كان الاوطا تركيزا وبقيمة 3.01 ملغم .غم$^{-1}$. كذلك تشير النتائج الى وجود تباين في تراكيز الاجزاء النباتية المختلفة من المركبات الفينولية ، اذ تفوقت الاوراق على الاجزاء النباتية الاخرى في تركيز كل من الـ Naringin والـ p-Coumaric acid والـ Ferulic acid والذي بلغ 3.86 و1.47 و 1.23 ملغم$^{-1}$.غم بالتتابع ، بينما سجل اقل تركيز لهذه المركبات في عصير البرتقال اذ بلغ 0.54 و0.19 و0.23 ملغم .غم$^{-1}$ بالتتابع .

تفوقت الازهار على الاجزاء النباتية الاخرى في تركيز كل من الـ Hesperidin و الـ Caffeic acid و الـ Kaempferol والذي بلغ 14.3 و 3.39 و 1.74 ملغم.غم$^{-1}$ بالتتابع بينما سجل اوطا تركيز من هذه المركبات في القشرة الخارجية والاوراق بلغ 3.88 و0.21 و 0.39 ملغم.غم$^{-1}$ بالتتابع .

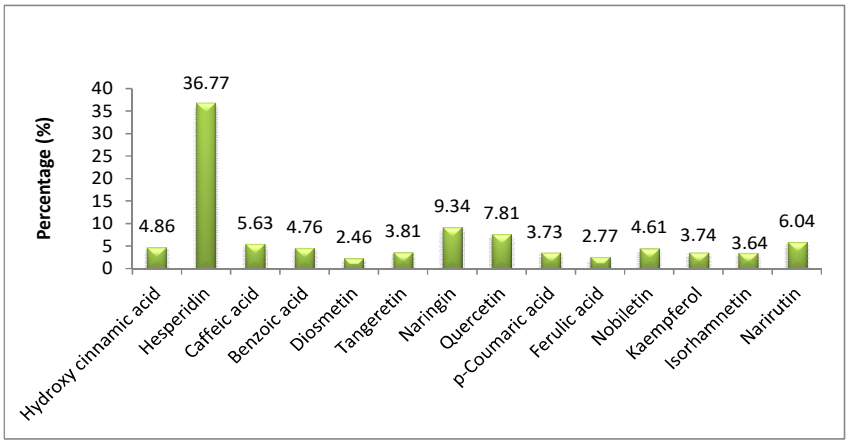
جدول (5) تراكيز المركبات الفينولية في بعض أجزاء نبات البرتقال(ملغم.غم$^{-1}$) وزن جاف

اسم المركب	تركيز المركب						التركيز الكلي
	الاوراق	الازهار	القشرة الخارجية للثمار	القشرة الوسطى للثمار	العصير	البذور	
Hydroxy cinnamic acid	0.19	0.19	0.93	2.69	0.75	1.18	5.93
Hesperidin	4.57	14.37	3.88	7.51	8.97	5.61	44.91
Caffeic acid	0.21	3.39	0.56	0.55	0.48	1.68	6.87
Benzoic acid	0.81	0.39	0.59	1.51	0.52	1.99	5.81
Diosmetin	0.38	0.68	0.42	0.35	0.47	0.71	3.01
Tangeretin	0.69	0.80	0.74	0.41	0.99	1.02	4.65
Naringin	3.86	1.77	2.58	0.62	0.54	2.04	11.41
Quercetin	0.59	2.27	1.05	0.78	1.27	3.58	9.54
p-Coumaric acid	1.47	0.67	0.41	0.43	0.19	1.39	4.56
Ferulic acid	1.23	0.31	0.27	0.33	0.23	1.01	3.38
Nobiletin	0.64	1.05	1.15	0.52	0.91	1.36	5.63
Kaempferol	0.39	1.74	0.80	0.42	0.73	0.49	4.57
Isorhamnetin	1.01	0.29	0.75	0.47	1.37	0.55	4.44
Narirutin	0.49	1.21	2.92	0.56	1.19	1.01	7.38

يتضح ايضا من خلال النتائج المعروضة في جدول (5) ان القشرة الخارجية للثمار سجلت أعلى تركيز من الـ Narirutin والذي بلغ 2.92 ملغم.غم$^{-1}$ بالمقارنة مع الاوراق والتي سجلت اوطأ تركيز من هذا المركب بلغ مقداره 0.49 ملغم.غم$^{-1}$. حققت القشرة الوسطى للثمار أعلى تركيز من الـ Hydroxy cinnamic acid متفوقة بذلك على الاجزاء النباتية الاخرى، اذ بلغ 2.69 ملغم.غم$^{-1}$ بالمقارنة مع اوطأ تركيز للحامض تم الحصول عليه من الاوراق والازهار و بلغ 0.19 ملغم .غم$^{-1}$ في كليهما .

اما فيما يتعلق بالعصير ، فيتضح من خلال النتائج التي تم التوصل اليها، وجود مركب الـ Isorhamnetin فيه وبالتركيز الاعلى مقارنة بالاجزاء النباتية الاخرى اذ بلغ 1.37 ملغم.غم$^{-1}$ مقارنة بالازهار والتي سجلت اوطا تركيز من هذا المركب بلغ 0.29 ملغم.غم$^{-1}$. تشير نتائج التحليل الى تفوق البذور على الاجزاء النباتية الاخرى في تركيز كل من Benzoic acid و Diosmetin و Tangeretin و Quercetin وNobiletin ،اذ بلغت 1.99 و0.71 و1.02 و3.58 و1.36 ملغم.غم$^{-1}$ بالتتابع ، فيما سجلت الاجزاء الاخرى تراكيز متفاوتة من هذه المركبات.

تشير النتائج المبينة في شكل (4) وملحق (1) ان مركب الـ Hesperidin حقق أعلى نسبة مئوية في الاجزاء الستة لنبات البرتقال بالمقارنة مع المركبات الفينولية الاخرى ،اذ بلغت نسبته 36.77 % وبنسبة زيادة مئوية بلغ مقدارها 13.92% مقارنة بالمركب Diosmetin والذي سجّل اوطأ نسبة مئوية بلغتْ 2.46% .



شكل(4) النسب المئوية للمركبات الفينولية في بعض أجزاء نبات البرتقال.

تتفقّ نتائج الدراسة الحالية مع العديد من الدراسات السابقة التي أكّدتْ وجود نسب من المركبات الفينولية في بعض أجزاء نبات البرتقال وخاصة الاجزاء غيرِ الصالحة للاكل كالاوراق والبذور والقشور (Liew واخرون،2018 و Farag واخرون،2020).

تتفقّ هذه الدراسة مع البحوث التي اكدت نتائجها على انَّ معظم مركبات الفلافونويد الموجودة في البرتقال هي Hesperidin وNaringin ومن هذه البحوث (panche واخرون،2016 و Montero-Calderonواخرون,2019 و Victor واخرون ،2020؛ Chen واخرون ,2020).

إنَّ التباين في تراكيز المركبات الفينولية ربما يعود الى عدة عوامل منها: طبيعة المنطقة الجغرافية , وعمر النبات , ووقت الجمع, ونوع الجزء المستخلص منه كالبذور والقشور والاوراق فضلاً عن مستوى نمو ونضج الثمار وبعض العوامل الوراثية الخاصة بالنوع(Al-Anbari وHasan،2015 وIglesias-Carres واخرون،2019) .

تتفق نتائج هذه الدراسة مع العديد من البحوث السابقة والتي اكدت وجود نسب من الاحماض الفينولية في بعض اجزاء نبات البرتقال ومن هذه البحوث (Al-Anbari واخرون،2013 و Nayak واخرون،2015 ؛ Dzah واخرون،2020) .

وبصورة عامة فان الاحماض الفينولية المشتقة من حامض البنزويك Benzoic acid هي اقلُّ توافراً عند مقارنتها مع حامض الـ Hydroxy cinnamic acid ومشتقاته من احماض الفيريوليك Ferulic acid والكوماريك Coumaric acid و الكافييك Caffeic acid والتي أظهرتْ نسباً أعلى في جميع اجزاء النبات المستعملة في هذه الدراسة ، وهذه النتيجة تتفق مع النتائج التي توصل لها كل من (Kumar وGoel ،2019 وSova و Sosa،2020).

4-1-2 تقدير تراكيز المركبات القلويدية (ملغم.غم$^{-1}$) وزن جاف

Estimation of alkaloids compounds concentrations

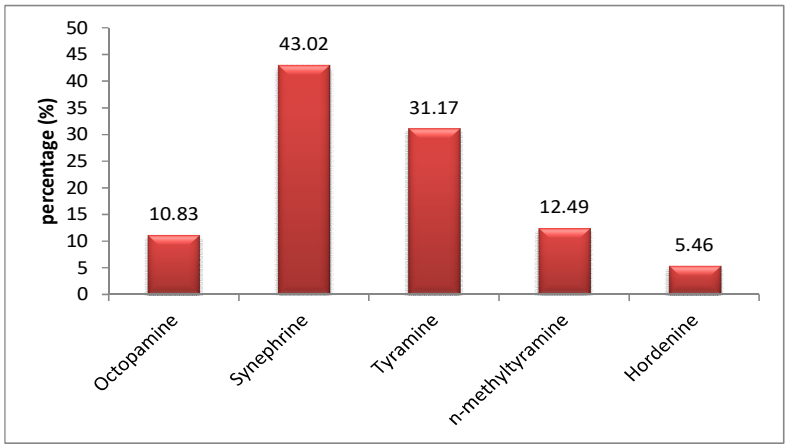
تشير النتائج المعروضة في جدول (6)الى وجود تباين في تراكيز المركبات القلويدية في نبات البرتقال ،اذ تفوق مركب الـSynephrine على باقي المركبات القلويدية الاخرى والذي بلغ تركيزه 4.65 ملغم .غم$^{-1}$ ،فيما سجل مركب الـ Hordenine اقل تركيز في جميع اجزاء نبات البرتقال والذي بلغ 0.59 ملغم .غم$^{-1}$.

جدول (6) تراكيز المركبات القلويدية في بعض اجزاء نبات البرتقال(ملغم .غم$^{-1}$) وزن جاف

اسم المركب	تركيز المركب						التركيز الكلي
	الاوراق	الازهار	القشرة الخارجية	القشرة الوسطى	العصير	البذور	
Octopamine	0.18	0.22	0.39	0.19	…	0.23	1.21
Synephrine	1.07	0.79	0.59	0.79	0.34	1.06	4.65
Tyramine	0.28	0.25	…	0.09	…	2.75	3.37
n-methyltyramine	0.39	0.35	0.27	0.19	0.13	0.02	1.35
Hordenine	0.15	0.11	…	0.12	…	0.21	0.59

كذلك تشير النتائج الى وجود تباين في تراكيز المركبات القلويدية بين الاجزاء المختلفة لنبات البرتقال , اذ تفوقت القشرة الخارجية في تركيزها من مركب الـOctopamine والذي بلغ 0.39 ملغم .غم$^{-1}$ مقارنة بالاوراق والتي سجلت اوطأ تركيز لهذا المركب بلغ 0.18 ملغم .غم$^{-1}$ بينما لم يتواجد هذا المركب في عصير الثمار . حققت الاوراق أعلى تركيز من الـSynephrine والـ n-methyltyramine بلغ 1.07 و 0.39 ملغم .غم$^{-1}$ بالتتابع مقارنة باوطا تركيز لهذين المركبين تم الحصول عليه من العصير والبذور بلغ 0.34 و 0.02 ملغم .غم$^{-1}$ بالتتابع . تبين النتائج ايضا ان البذور سجلت اعلى تركيز من الـ Tyramine والـ Hordenine بلغ 2.75 و 0.21 ملغم .غم$^{-1}$ بالتتابع مقارنة باوطا تركيز لهذين المركبين تم الحصول عليه من القشرة الوسطى و الازهار بلغ 0.09 و 0.11 ملغم .غم $^{-1}$ بالتتابع ، بينما لم يتواجد هذين المركبين في كل من القشرة الخارجية والعصير .

تشير النتائج المبينة في شكل (5) وملحق (2) أن مركب الـ Synephrine حقق أعلى نسبة مئوية في أجزاء نبات البرتقال مقارنة بالمركبات القلويدية الاخرى ،اذ بلغت نسبته 43.02 % محققاً نسبة زيادة مئوية بلغ مقدارها 688 % بالمقارنة مع مركب الـ Hordenine والذي سجل اقل نسبة مئوية بلغت 5.46 %.



شكل (5) النسب المئوية للمركبات القلويدية في بعض أجزاء نبات البرتقال

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع Adewole واخرون (2014) و Zhang وJiao (2019) والتي اشارت نتائج دراساتهم الى وجود نسب من المركبات القلويدية في بعض اجزاء نبات البرتقال وخاصة القشوروالبذور والاوراق . النتائج الحالية للبحث تبين ان مركب الـ Synephrine حقق أعلى تركيز بالمقارنة مع المركبات القلويدية الاخرى وهذه النتيجة تتفق مع نتائج كل من(Asowata-Ayodele واخرون، 2019 و Karn واخرون،2020).

جاءت نتائج البحث الحالي متوافقة مع ما وجده Kato و Nakayama(2018) اذ تشير نتائجهم الى وجود القلويدات بشكل اساسي في رحيق الازهار وحبوب اللقاح .

تتفق نتائج هذه الدراسة مع الدراسة التي قام بها Zhang و اخرون(2020) والتي بينت نتائجها ان ازهار الحمضيات تنتج عددا من المركبات الفعالة الخاصة بها كالفينولات والقلويدات ،وان هذه المركبات تختلف عن تلك التي تنتجها الاوراق والقشور ويمكن الاستفادة منها تصنيفيا للفصل بين الانواع المتقاربة من الحمضيات.

تتفق نتائج البحث الحالي مع نتائج دراسة اجريت من قبل Mahato واخرون(2019) عن المركبات الفعالة ونسب تواجدها في بعض اجزاء نبات البرتقال ، بينت نتائج الفريق البحثي ان اقل نسبة من القلويدات سجلت في لب وعصير البرتقال بالمقارنة مع الاجزاء النباتية الاخرى، وهذا ما اكدته نتائج البحث الحالي، اذ اكدت النتائج التي تم التوصل اليها، ان اقل نسبة من مركب الـ Synephrine كان قد تم الحصول عليه من عصير البرتقال. تتفق نتائج البحث الحالي مع نتائج كل من Zhang وJiao (2019) و Farag واخرون (2020) ، والتي اكّدتْ على ان مركب الـ n-methyltyramine هو المركب الاكثر شيوعاً في معظم انواع الحمضيات .

4-1-3 تقدير تراكيز المركبات الكاروتينية (ملغم.غم$^{-1}$) وزن جاف Estimation of carotenoid compounds concentrations

تبين النتائج الموضحة في جدول (7) وجود تباين في تراكيز المركبات الكاروتينية اذ سجل مركب الـ lutein + اعلى تركيز بلغ 7.07 ملغم .غم$^{-1}$ مقارنة بالمركبات الكاروتينية الاخرى ،في حين سجل مركب الـNeoxanthin اوطأ تركيز بلغ 0.61 ملغم .غم$^{-1}$ ، كذلك تشير النتائج الى وجود تباين كبير في تراكيز المركبات الكاروتينية في الاجزاء المختلفة لنبات البرتقال ،اذ سجلت القشرة الخارجية للثمار اعلى تركيز في معظم المركبات الكاروتينية مثل Neoxanthinو trans- violaxanthin و Luteoxanthin و cis-violaxanthin و +lutein وTaraxanthin و– α

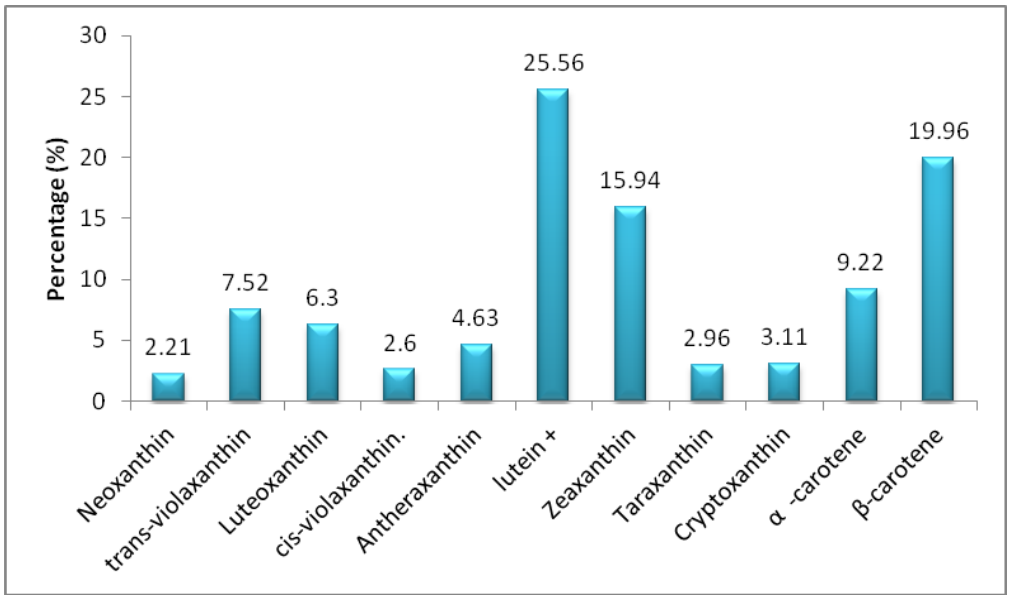
carotene وβ-carotene اذ بلغ 0.21 و 0.92 و0.58 و 0.22 و1.86 و0.45 و 0.72 و1.63 ملغم.غم$^{-1}$ بالتتابع مقارنة بأجزاء النبات الاخرى والتي تباينت فيها تراكيز هذه المركبات.

جدول(7) تراكيز المركبات الكاروتينية في بعض اجزاء نبات البرتقال (ملغم .غم $^{-1}$) وزن جاف

اسم المركب	تركيز المركب						التركيز الكلي
	الاوراق	الازهار	القشرة الخارجية للثمار	القشرة الوسطى للثمار	العصير	البذور	
Neoxanthin	0.11	0.16	0.21	…	0.13	…	0.61
trans-violaxanthin	0.18	0.19	0.92	0.43	0.15	0.21	2.08
Luteoxanthin	0.22	0.16	0.58	0.31	0.14	0.33	1.74
cis-violaxanthin.	0.17	…	0.22	0.19	…	0.14	0.72
Antheraxanthin	0.25	0.24	0.30	0.31	…	0.18	1.28
lutein +	1.55	1.16	1.86	1.01	0.67	0.82	7.07
Zeaxanthin	1.13	1.16	0.83	0.31	0.47	0.51	4.41
Taraxanthin	0.22	…	0.45	…	…	0.15	0.82
Cryptoxanthin	0.20	…	0.24	…	…	0.42	0.86
α –carotene	0.52	0.29	0.72	0.47	0.19	0.36	2.55
β-carotene	1.03	1.44	1.63	0.40	0.14	0.88	5.52

أما بالنسبة للمركب Antheraxanthin فقد سجل اعلى تركيز له في القشرة الوسطى للثمار بلغ 0.31 ملغم.غم$^{-1}$ مقارنة باوطا تركيز من هذا المركب تم الحصول عليه من البذور اذ بلغ 0.18 ملغم.غم$^{-1}$. تبين النتائج ايضا ان مركب الـ Zeaxanthin سجل اعلى تركيز له في الازهار اذ بلغ

1.16 ملغم.غم$^{-1}$ مقارنة باقل تركيز سجل في القشرة الوسطى والذي بلغ 0.31 ملغم .غم$^{-1}$ سجل مركب الـ Cryptoxanthin اعلى تركيز في البذور بلغ 0.42 ملغم .غم$^{-1}$ مقارنة باوطا تركيز سجل في الاوراق والذي بلغ 0.20 ملغم.غم$^{-1}$ ، في حين لم تظهر النتائج اي وجود لهذا المركب في كل من الازهار والقشرة الوسطى والعصير. تبين النتائج الموضحة في شكل (6) وملحق(3) ان مركب الـ lutein+ هو المركب الاعلى تركيزا في نبات البرتقال مقارنة بالمركبات الكاروتينية الاخرى ،اذ بلغت نسبته 25.56% وبنسبة زيادة مئوية بلغ مقدارها 1059% مقارنة بالمركب Neoxanthin والذي سجل التركيز الاوطأ وبنسبة مئوية بلغت 2.21% .



شكل (6) النسب المئوية للمركبات الكاروتينية في بعض أجزاء نبات البرتقال

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع العديد من البحوث والدراسات السابقة والتي اشارت نتائجها الى وجود نسب عالية من الكاروتينات في بعض اجزاء نبات البرتقال وخاصة القشرة الخارجية للثمار(Saini و Keum،2018 و Karn واخرون،2020) . اكدوا التكريتي (2017) و Al-idee واخرون(2020) في دراسات لهم اجريت بهدف استخلاص الكاروتينات من قشور الثمار لانواعٍ

مختلفة من الحمضيات ،ان قشور البرتقال تمتلك أعلى نسبة من الكاروتينات الايبوكسية Epoxycarotenoids بالمقارنة مع انواع الكاروتينات الاخرى ، وهذا ما اشارت اليه بوضوح نتائج البحث الحالي. تتفق النتائج التي تم التوصل اليها ايضا مع الدراسات التي اجراها كل منMurador واخرون(2019) وMahato واخرون(2019)، اذ اشارت نتائج تلك الدراسات الى وجود الكاروتينات بنسب قليلة في عصير البرتقال بالمقارنة مع نسب تواجدها في الاجزاء النباتية الاخرى ،كما جاءت نتائج البحث الحالي متوافقة مع ما توصل اليه Karn واخرون(2020) من ان المركب الكاروتيني +lutein قد سجل اعلى نسبة تواجد له في نبات البرتقال بالمقارنة مع المركبات الاخرى ،وبصورة عامة فان نسب الزانثوفيلات xanthophylls تزداد تراكيزها في الثمار الناضجة وخاصة في القشرة الخارجية والاجزاء المعرضة للضوء بالمقارنة مع الاجزاء الاخرى للنبات (Lado واخرون،2019 و Chengواخرون,2020)

اكدت الدراسات التي قا م بها Liu واخرون(2012) و El-Rahman و اخرون(2019) ، ما تم التوصل اليه في نتائج البحث الحالي ، من ان المركب β-carotene يتواجد بتركيز اعلى من α -carotene في معظم اجزاء نبات البرتقال لكونه المكون الاساسي لفيتامين E. في حين يقل تركيز مركب Neoxanthin بالمقارنة مع انواع الكاروتينات الاخرى، وهذه النتيجة تتفق مع ما جاءت به نتائج هذا البحث(جدول 7).

4-1-4 تقدير التانينات الكلية (ملغم.غم$^{-1}$) Estimation of total tannins

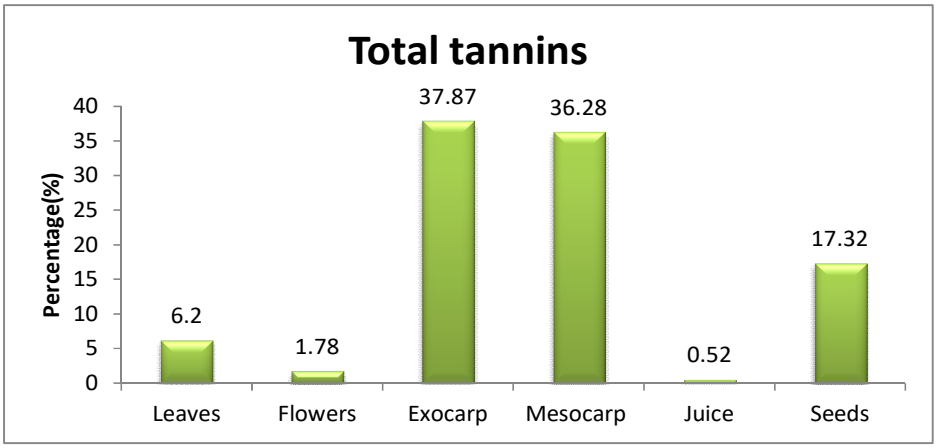
تشير النتائج المبينة في جدول(8) و ملحق(4) الى تفوق القشرة الخارجية للثمار في تركيزها من التانينات الكلية مقارنة بالاجزاء النباتية الاخرى ،اذ تم الحصول على اعلى تركيز للتانينات

الكلية في القشرة الخارجية للثمار بلغ 7.87 ملغم.غم$^{-1}$ بينما سجل اوطأ تركيز للتانينات الكلية في عصير الثمار والذي بلغ 0.11 ملغم .غم$^{-1}$.

جدول (8) تركيز التانينات الكلي في بعض اجزاء نبات البرتقال(ملغم .غم$^{-1}$) وزن جاف

اسم المركب	تركيز المركب						التركيز الكلي
	الاوراق	الازهار	القشرة الخارجية للثمار	القشرة الوسطى للثمار	العصير	البذور	
Total Tannins	**1.29**	**0.37**	**7.87**	**7.54**	**0.11**	**3.60**	**20.78**

تباينت تراكيز التانينات في باقي اجزاء نبات البرتقال اذ بلغت 7.54 و3.60 و1.29 و0.37 ملغم.غم$^{-1}$ في كل من القشرة الوسطى للثمار والبذور والاوراق والازهار على التوالي. ويبين الشكل(7) النسب المئوية للتانينات الكلية في بعض اجزاء نبات البرتقال .



شكل (7) النسب المئوية للتانينات الكلية في بعض اجزاء نبات البرتقال

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع عدد من الدراسات والبحوث السابقة والتي اشارت نتائجها الى وجود التانينات في بعض اجزاء نبات البرتقال كالجذور والسيقان والاوراق والقشور (Adewole واخرون،2014وAsif، 2015؛ Auad واخرون،2020). النتائج التي تم الحصول عليها في الدراسة الحالية تتفق ايضا مع ما توصل له Ezeabara واخرون(2014) في دراسة لهم للمقارنة بين نسب

التانينات في الاوراق والقشور والجذور لستة انواع من الحمضيات والتي بينت نتائجها ان اعلى نسبة من التانينات في البرتقال *C. sinensis* تم الحصول عليها من القشرة الخارجية مقارنة باجزاء النبات الاخرى. تتفق النتائج مع دراسة Bentahar واخرون(2020) اذ أكّدوا أن مخلفات ثمار البرتقال من القشور والبذور تمتلك نسب أعلى من التانينات الكلية عند مقارنتها باجزاء الثمرة الاخرى كاللب والعصير ، وهو ما اشارت له بوضوح نتائج هذه الدراسة.

4-1-5 - تقدير تراكيز المركبات الصابونية (ملغم.غم$^{-1}$)

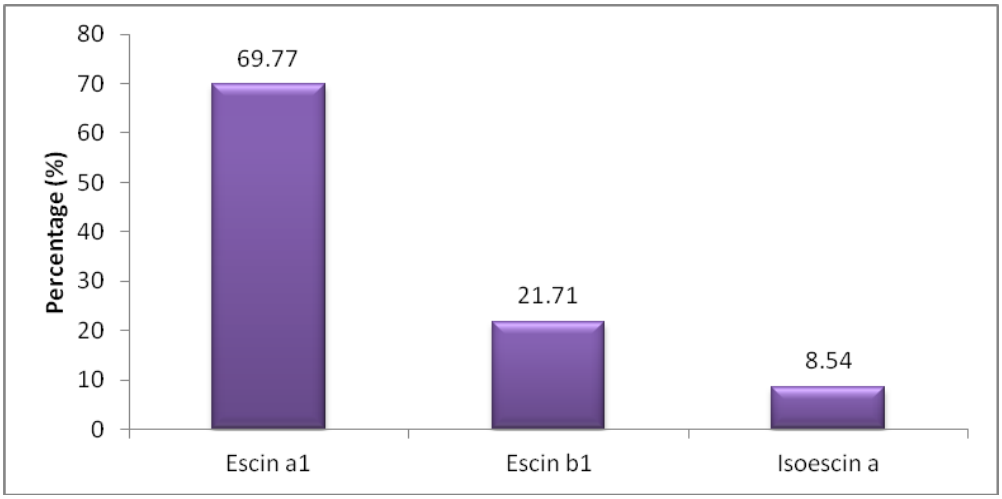
Estimation of saponins compounds concentrations

يتضح من خلال النتائج المبينة في جدول (9) تفوق الاوراق على الاجزاء النباتية الاخرى في تركيزها من Escin a1 و Escin b1 و Isoescin a اذ سجل فيها اعلى تركيز بلغ 0.31و0.11 و0.11 ملغم.غم$^{-1}$ بالتتابع بالمقارنة مع عصير البرتقال الذي لم تظهر فيه أي نسبة من المركبات الصابونية .

جدول(9) تراكيز المركبات الصابونية في بعض اجزاء نبات البرتقال(ملغم.غم$^{-1}$) وزن جاف

اسم المركب	تركيز المركب						التركيز الكلي
	االاوراق	الازهار	القشرة الخارجية للثمار	القشرة الوسطى للثمار	العصير	البذور	
Escin a1	0.31	0.18	0.13	0.18	…	0.10	0.90
Escin b1	0.11	0.08	…	…	…	0.09	0.28
Isoescin a	0.11	…	…	…	…	…	0.11

يتضح من خلال الشكل (8) وملحق (5) ، ان مركبEscin a1 قد سجل اعلى تركيز له في المركبات الصابونية لنبات البرتقال اذ بلغت نسبته 69.77 % ، محققا بذلك نسبة زيادة مئوية بلغت قيمتها 154.5% بالمقارنة مع مركب Isoescin a الذي سجل التركيز الاوطأ وبنسبة مئوية بلغت 8.52%.



شكل (8) النسب المئوية للمركبات الصابونية في بعض اجزاء نبات البرتقال

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع العديد من البحوث و الدراسات السابقة والتي أكدت نتائجها وجود نسب من المركبات الصابونية في بعض اجزاء نبات البرتقال وخاصة في الاوراق و القشوروالبذور(Olabanji واخرون،2016 و Sohi و Shri ،2018) . نتائج البحث الحالي جاءت متوافقة ايضا مع الدراسة التي أجراها Liu واخرون(2012) والتي شخص فيها عدد من المركبات الفعالة في نبات البرتقال ،اذ بينت نتائجها وجود نسب من المركبات الصابونية في قشور الثمار . النتائج التي تم الحصول عليها تشير الى عدم ظهور اي نسبة من المركبات الصابونية في عصير البرتقال وهذا يتفق مع نتائج الباحثين Al-Snafi(2016) و Mahato واخرون(2019).

4-1-6 تقدير تراكيز الفيتامينات الذائبة في الماء (ملغم.غم$^{-1}$) Estimation of water soluble vitamins concentrations

تشير النتائج المبينة في جدول(10) الى وجود تباين في تراكيز الفيتامينات الذائبة في الماء اذ سجل الـ Niacin(فيتامين B3) أعلى تركيز بلغ 157.78 ملغم.غم$^{-1}$ مقارنة باوطأ تركيز للمركب Folic acid والذي بلغ 17.26 ملغم.غم$^{-1}$. تشير النتائج ايضا الى وجود تباين في تراكيز باقي

المركبات وهي كل من Vitamin C والـRiboflavin (B2) والـPyridoxine (B6) والـ Thiamin(B1) اذ بلغت تراكيزها 106.69 و72.08 و 45.33 و43.07 ملغم.غم$^{-1}$ بالتتابع.

جدول (10) تراكيز الفيتامينات الذائبة في بعض اجزاء نبات البرتقال(ملغم .غم $^{-1}$) وزن جاف

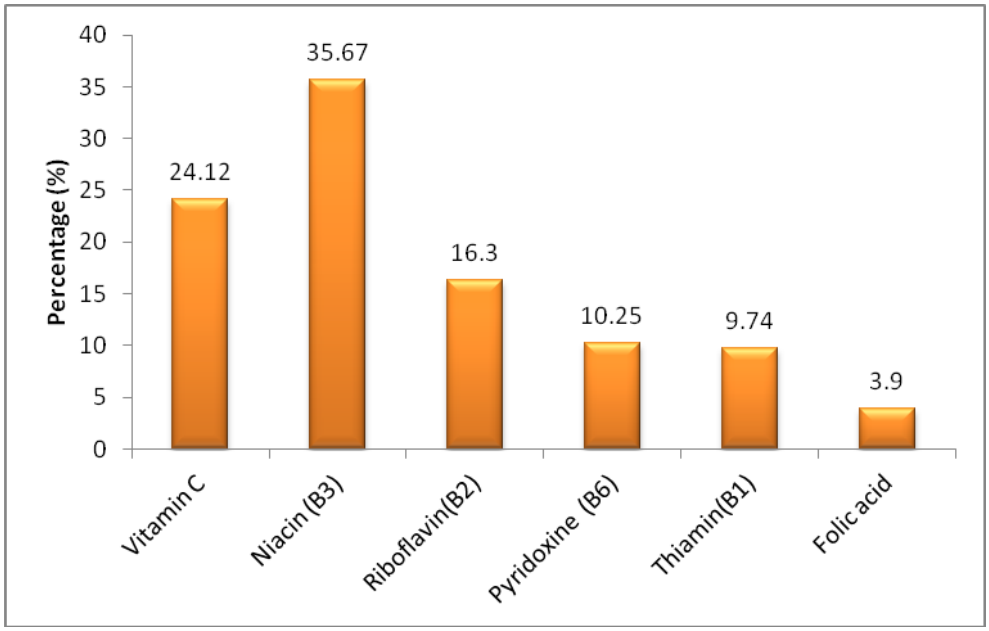
اسم المركب	تركيز المركب						التركيز الكلي
	الاوراق	الازهار	القشرة الخارجية للثمار	القشرة الوسطى للثمار	العصير	البذور	
Vitamin C	14.85	15.86	16.04	8.37	25.82	25.75	106.69
Niacin (B3)	21.01	14.86	25.69	13.28	43.67	39.27	157.78
Riboflavin(B2)	9.89	12.49	19.59	10.52	11.47	8.12	72.08
Pyridoxine (B6)	6.04	4.60	6.11	15.39	5.18	8.01	45.33
Folic acid	3.27	2.74	2.23	2.82	5.36	0.84	17.26
Thiamin(B1)	7.68	1.46	6.52	6.16	12.10	9.15	43.07

تشير النتائج ايضا الى تباين تراكيز الفيتامينات الذائبة في الاجزاء المختلفة من نبات البرتقال .اذ سجل كل من فيتامين C والـ Niacin(B3) التركيز الاعلى في عصير الثمار اذ بلغ 25.82 و43.67 ملغم.غم$^{-1}$ بالتتابع مقارنة مع اوطأ تركيز لهذين المركبين تم الحصول عليه من القشرة الوسطى للثمار والذي بلغ 8.37 و13.28 ملغم.غم$^{-1}$ بالتتابع .

حقق الـ Riboflavin(B2) اعلى تركيز له في القشرة الخارجية للثمار اذ بلغ 19.59 ملغم.غم$^{-1}$ مقارنة باوطا تركيز سجل في البذور والذي بلغ 8.12 ملغم.غم$^{-1}$. في حين سجل الـ Pyridoxin (B6) اعلى تركيز له في القشرة الوسطى اذ بلغ 15.39 ملغم .غم$^{-1}$ مقارنة باوطأ

تركيز سجل في الازهار والذي بلغ 4.60 ملغم .غم$^{-1}$. حقق حامض الـFolic acid اعلى تركيز له في عصير الثمار اذ بلغ 5.36 ملغم .غم$^{-1}$ مقارنة باوطا تركيز تم الحصول عليه من البذور والذي بلغ 0.48 ملغم.غم$^{-1}$. أما الـThiamin (فيتامين B1) فقد سجل اعلى تركيز له في عصير الثمار اذ بلغ 12.10ملغم.غم$^{-1}$ مقارنة باوطا تركيز لهذا الفيتامين تم الحصول عليه من الازهار والذي بلغ 1.46 ملغم.غم$^{-1}$.

تشير النتائج الموضحة في شكل (9) و ملحق(6) ان الـNiacin (فيتامين B3) حقق اعلى نسبة مئوية في اجزاء نبات البرتقال، اذ بلغت نسبته 35.67 % وحقق نسبة زيادة مئوية بلغ مقدارها 814% بالمقارنة مع حامض الـ Folic acid الذي سجل التركيز الاوطأ وبنسبه مئوية بلغت 3.90% .



شكل (9) النسب المئوية للفيتامينات في بعض اجزاء نبات البرتقال

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع العديد من الدراسات السابقة التي تؤكد وجود نسب عالية من الفيتامينات الذائبة في الماء في بعض اجزاء نبات البرتقال ومن هذه الدراسات (Rani واخرون، 2019 و Kashiouris واخرون،2020 ؛Lykkesfeldt واخرون،2020) .

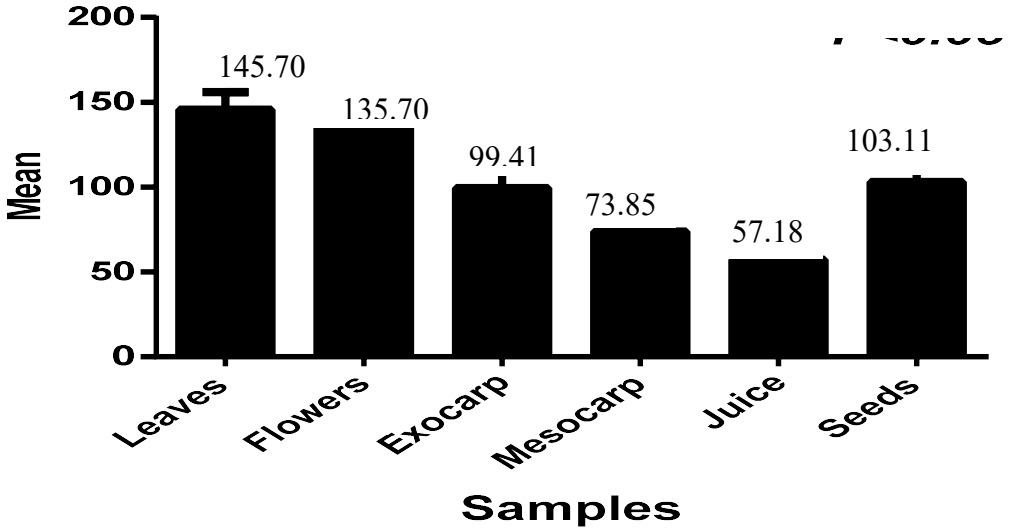
جاءت الدراسة الحالية متوافقة ايضا مع الدراسات التي قام بها كل من Al-Sanafi(2016) و Mahato واخرون (2019) بهدف المقارنة بين نسب الفيتامينات في عصير البرتقال ومخلفات النبات من الاوراق والقشور والبذور ، اذ اشارت النتائج الى تفوق العصير على باقي اجزاء نبات البرتقال في محتواه من الفيتامينات الذائبة في الماء. تتفق نتائج البحث ايضا مع ما ماتوصل اليه كل من Liu واخرون(2012) و USDA(2016)، اذ اكدت نتائج دراساتهم ان حامض الفوليك سجل التركيز الاقل مقارنة مع تراكيز الفيتامينات الاخرى،وهو ما بينته بوضوح نتائج هذا البحث.

4-2 -تقدير المحتوى الفينولي و المحتوى الفلافونيدي لبعض أجزاء نبات البرتقال Estimation of TPC and TFC from different parts of *Citrus sinensis*

4-2-1- تقدير المحتوى الفينولي الكلي(ملغم مكافئ حامض الغاليك .غم $^{-1}$ وزن جاف) .

تشير النتائج المبينة في شكل (10) الى تفوق الاوراق في المحتوى الفينولي الكلي (TPC) والذي بلغت قيمته 145.7 ملغم مكافئ حامض الغاليك .غم $^{-1}$ وزن جاف تليها الازهار وبقيمة 135.7 ملغم مكافئ حامض الغاليك .غم $^{-1}$ وزن جاف ، بينما سجل عصير البرتقال اقل محتوى كلي للفينولات بلغ 57.18 ملغم مكافئ حامض الغاليك .غم $^{-1}$ وزن جاف . تتفق هذه النتائج مع البحوث والدراسات السابقة والتي أكدت نتائجها أنّ مخلفات نبات البرتقال كالقشور والبذور والاوراق

تمتلك التركيز الاعلى من المحتوى الفينولي مقارنة بالاجزاء الصالحة للاكل وهي اللب وعصير الثمار (Molanواخرون،2016؛Zhang واخرون،2018).



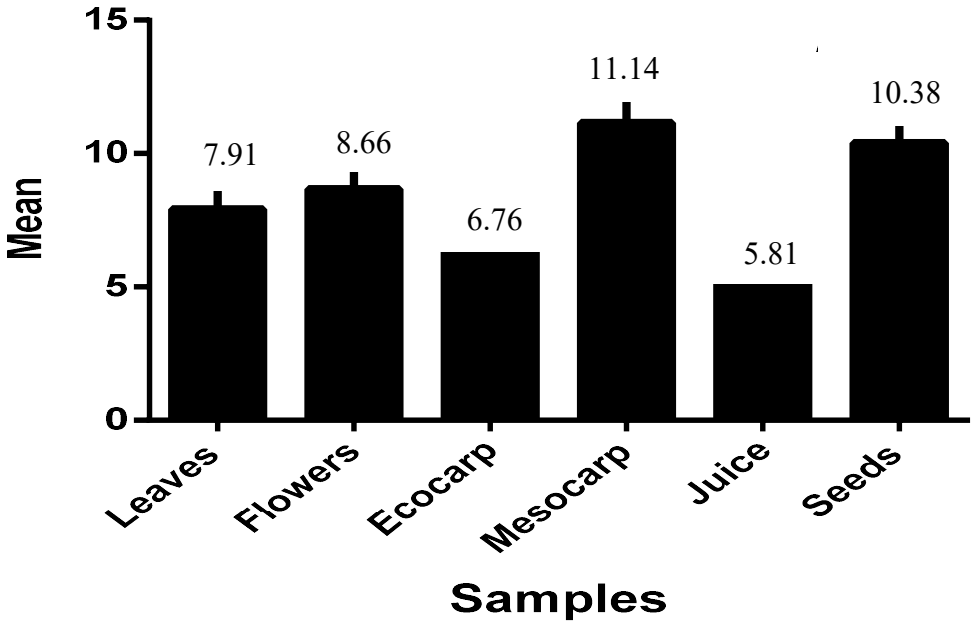
شكل(10) المحتوى الفينولي الكلي في بعض اجزاء نبات البرتقال

(ملغم مكافئ حامض الغاليك.غم$^{-1}$ وزن جاف)

4-2-2 تقدير المحتوى الفلافونيدي الكلي (ملغم مكافئ Quercetin.غم$^{-1}$ وزن جاف)

تشير النتائج المبينة في شكل (11) الى وجود تفاوت في محتوى الفلافونيدات الكلي بين الاجزاء المختلفة لنبات البرتقال .اذ تم الحصول على اعلى محتوى للفلافونيدات الكلية (TFC) من القشرة الوسطى للثمار وبتركيز 11.14 ملغم مكافئ Quercetin.غم$^{-1}$ وزن جاف يليها البذور بتركيز 10.38 ملغم مكافئ Quercetin.غم$^{-1}$ وزن جاف ،بينما سُجل اقل تركيز للمحتوى الفلافونيدي الكلي في العصير وبقيمة 5.81 ملغم مكافئ Quercetin.غم$^{-1}$ وزن جاف.

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع العديد من البحوث والدراسات السابقة والتي اشارت نتائجها الى وجود اعلى نسبة من الفلافونيدات في قشور البرتقال مقارنة بالاجزاء الاخرى للنبات ومن هذه الدراسات (Mahato واخرون، 2019 و Olyad واخرون, 2020).



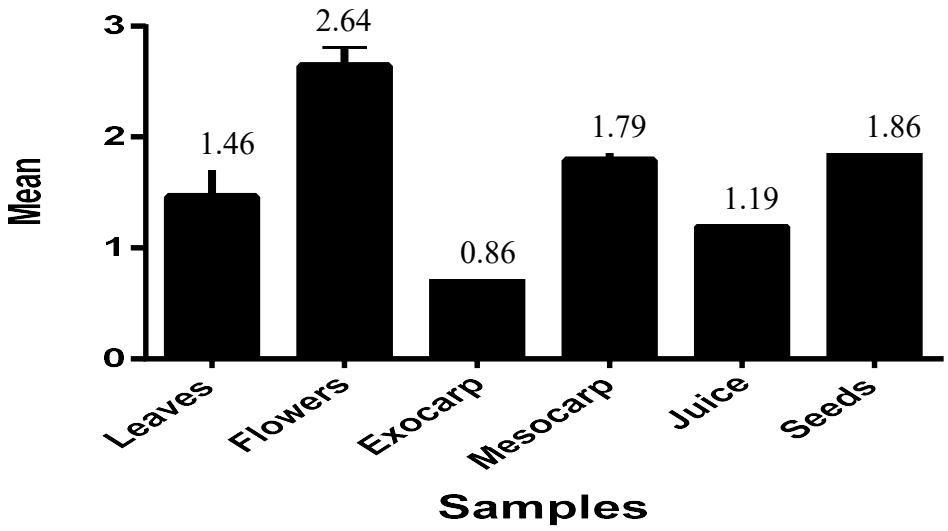
شكل(11) المحتوى الكلي للفلافونيدات في بعض اجزاء نبات البرتقال

(ملغم مكافئ Quercetin.غم$^{-1}$ وزن جاف)

4-3 -تقييم الفعالية المضادة للاكسدة Evaluation of antioxidant effectiveness

4-3-1 اختبار كسح الجذور الحرة Radical Scavenging Test Using DPPH

تشير النتائج االمبينة في شكل (12) الى تباين في القدرة على تثبيط الجذر الحر DPPH بين اجزاء نبات البرتقال المختلفة ، اذ يتضح من خلال النتائج تفوق الازهار في الفعالية المضادة للاكسدة مسجلة القيمة الاعلى والتي بلغت 2.64 ملغم.مل$^{-1}$ تليها البذور والتي بلغت فيها قيمة DPPH 1.86 ملغم. مل$^{-1}$ ،اما اقل قيمة لتثبيط الجذر الحر كان قد تم الحصول عليها من القشرة الخارجية للثمار اذ بلغت 0.86 ملغم.مل$^{-1}$.

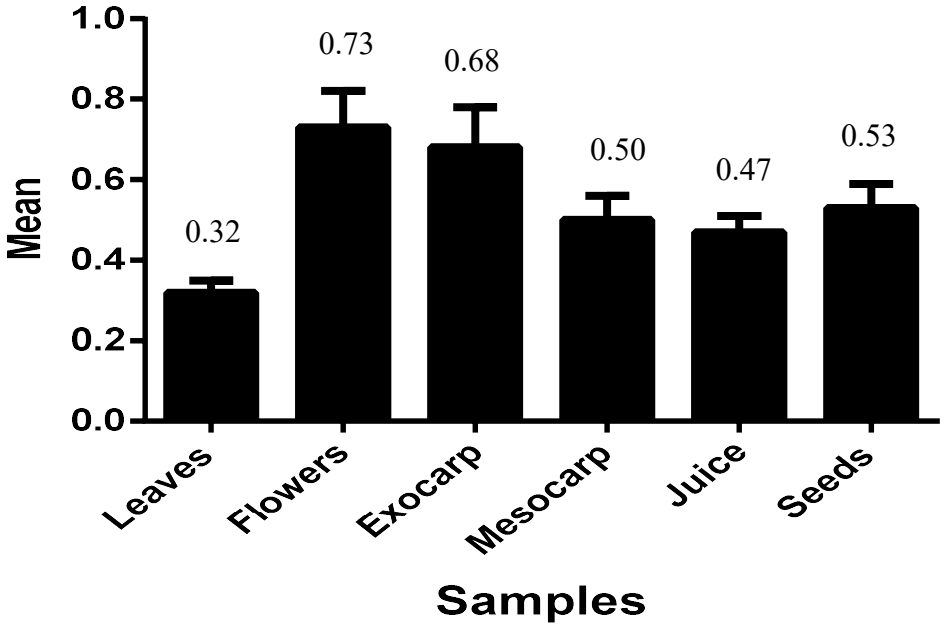


شكل (12) الفعالية المضادة للاكسدة DPPH في بعض اجزاء نبات البرتقال(ملغم. مل$^{-1}$)

4-3-2- تقييم الفعالية المضادة للاكسدة بطريقةFRAP

Ferric Reducing Antioxidant Power Test

تشير النتائج المبينة في شكل (13) الى تباين في قيم الاختزال للاجزاء المختلفة لنبات البرتقال.اذ حققت الازهار أعلى فعالية مضادة للاكسدة بلغت قيمتها 0.73 ملي مول Fe^{+2} .غم$^{-1}$ تليها القشرة الخارجية للثمار والتي بلغت قيمة الاختزال فيها(FRAP) 0.68 ملي مول Fe^{+2} .غم$^{-1}$ في حين كانت اوطأ قيمة للاختزال تم الحصول عليها من اوراق البرتقال وبلغت 0.32 ملي مول Fe^{+2} .غم$^{-1}$



شكل(13) قيم الاختزال FRAP في بعض اجزاء نبات البرتقال(ملي مول Fe^{+2} .غم$^{-1}$)

4-3-3 معامل الارتباط بين TPCوTFC وDPPH و FRAP

تشير النتائج المبينة في جدول(11)الى وجود تباين في قيم معامل الارتباط عند مستوى احتمالية $P < 0.05$ بين المحتوى الفينولي الكلي (TPC) والمحتوى الفلافونيدي الكلي (TFC) لبعض اجزاء نبات البرتقال مع الفعالية المضادة للاكسدة باستعمال طريقة كسح الجذر الحر(DPPH) وطريقة اختزال الحديديك (FRAP).اذ توضح النتائج وجود معامل ارتباط متوسط بين (TPC) و (TFC) مع الفعالية المضادة للاكسدة بطريقة الجذر الحر المصنع(DPPH) بلغ0.385 ،0.484 بالتتابع .في حين أظهرت النتائج وجود معامل ارتباط ضعيف بين (TPC)و(TFC) مع الفعالية المضادة للاكسدة بطريقة(FRAP) بلغ 0.019 و 0.022 بالتتابع .

جدول(11) معامل الارتباط بين TPC وTFC و DPPH و FRAP

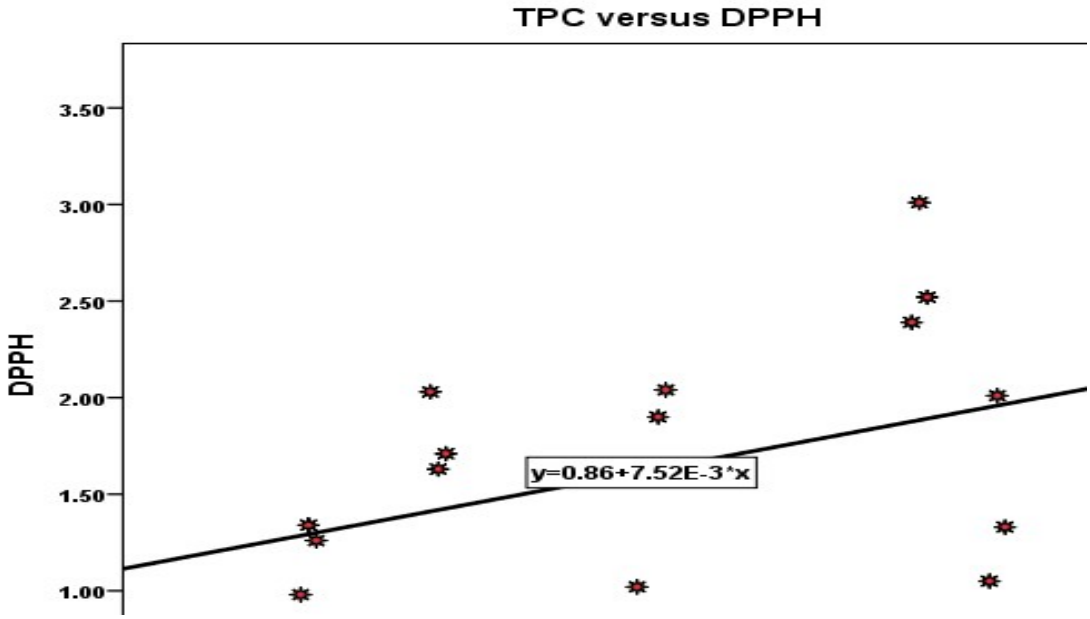
TFC	TPC	Pearson Correlation
*0.484	0.385	DPPH
0.022	0.019	FRAP

*تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية P <0.05

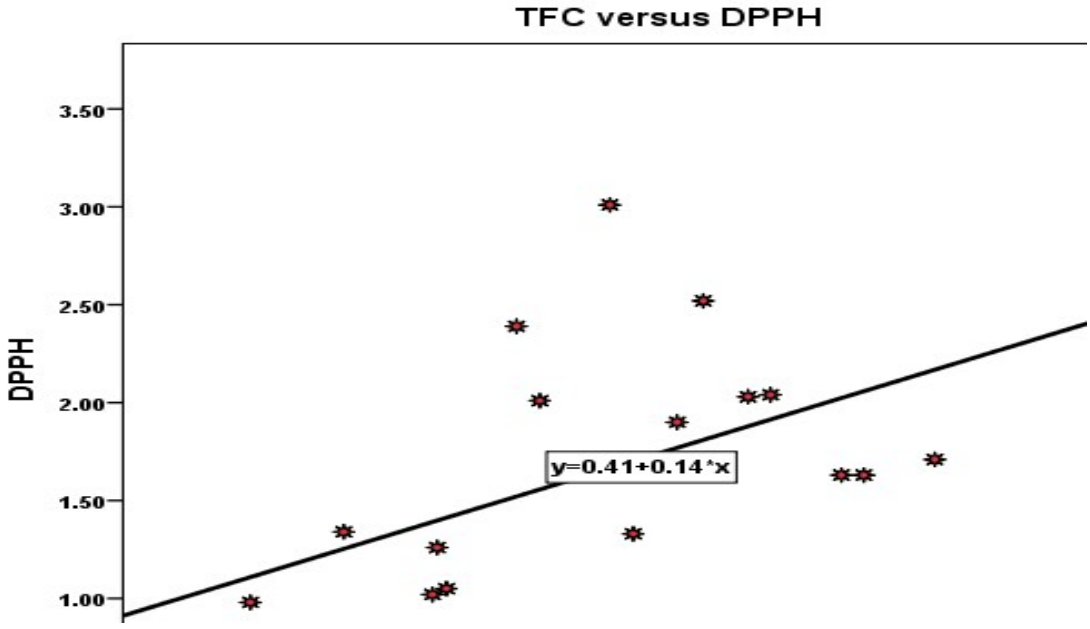
يبين شكل (14) العلاقة الخطية بين المحتوى الفينولي الكلي (TPC) لبعض اجزاء نبات البرتقال وبين الفعالية المضادة للاكسدة باستعمال طريقة كسح الجذر الحر المصنع (DPPH)، اذ بلغت قيمة معامل الارتباط الخطي R^2 = 0.148. في حين يبين شكل (15) العلاقة الخطية بين المحتوى الفلافونيدي الكلي (TFC) وبين الفعالية المضادة للاكسدة (DPPH) وبلغت قيمة معامل الارتباط الخطي R^2 = 0.234. تشير النتائج الى وجود علاقة خطية بين المحتوى الفينولي الكلي والمحتوى الفلافونيدي الكلي مع الفعالية المضادة للاكسدة باستعمال طريقة كسح الجذر الحر المصنع(DPPH) وهذه النتيجة تتفق مع ما توصل اليه الباحثون (Molan واخرون،2016 و Zhang و اخرون،2018) . ان وجود معاملات الارتباط ذات الدلالة الاحصائية بين TPC و TFC والفعالية المضادة للاكسدة بطريقة (DPPH)تؤكد ان نبات البرتقال يمتلك العديد من المركبات الفينولية والتي يمكن ان تساهم في الفعالية المضادة للاكسدة وهذه النتيجة تتفق مع ماتوصل له Dzah واخرون(2020) .

تشير النتائج المبينة في شكل (16) وشكل(17) الى وجود علاقة خطية ضعيفة بين المحتوى الفينولي الكلي والمحتوى الفلافونيدي الكلي مع الفعالية المضادة للاكسدة باستعمال طريقة اختزال الحديديك (FRAP). النتائج التي تم الحصول عليها جاءت متوافقة مع بحوث ودراسات سابقة منها

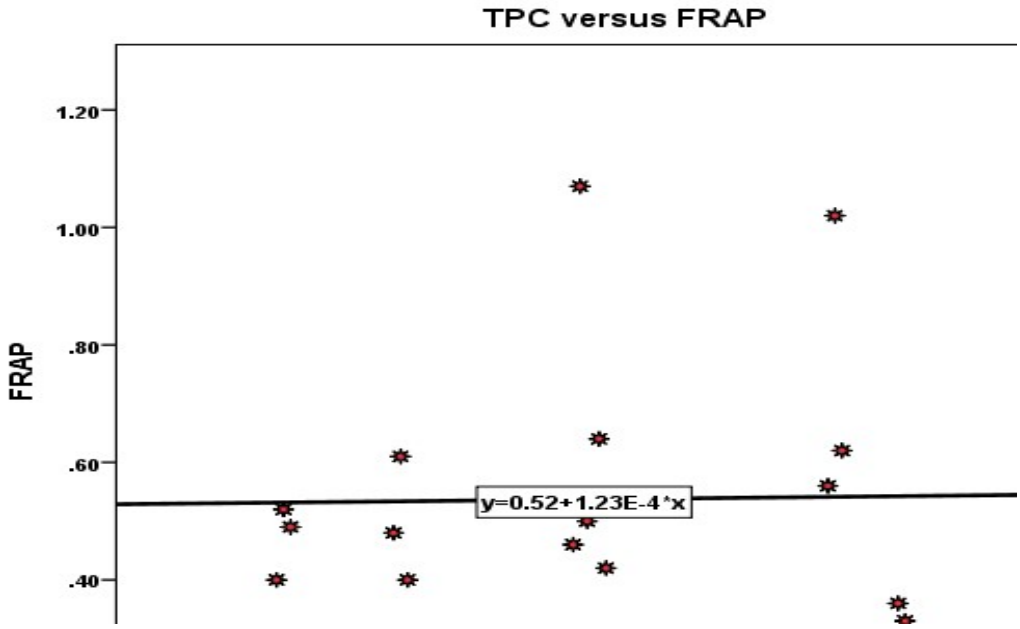
دراسة Ghasemi واخرون(2009) والتي اشارت نتائجها الى وجود معامل ارتباط ضعيف بين المحتوى الفينولي الكلي والفعالية المضادة للاكسدة . تبين نتيجة معامل الارتباط إلى أن العامل المهم في تحديد فاعلية نشاط مضادات الأكسدة للفلافونويد هو صيغته الجزيئية وليس تركيزه . اذ إن أنشطة الكسح الجذري للفلافونويد تعتمد بشكل كبير على الهيكل الفينولي وعلى عدد مجاميع الهيدروكسيل المرتبطة بها فكلما زادت بدائل الهيدروكسيل التي يمتلكها المركب كلما زادت فعاليته المضادة للاكسدة (Olyad واخرون،2020) .ان العديد من المركبات الفعالة قد تفقد فاعليتها ونشاطها الحيوي بسبب تطاير جزء من هذه المركبات اثناء مراحل التجفيف والاستخلاص اذ تشكل هذه العمليات تحديا كبيرا امام الباحثين للمحافظة على القيمة الدوائية والطبية للمركبات النباتية الفعالة (Al Juhaimi و اخرون،2018، Oikeh و اخرون،2020).تمتلك الحمضيات نسب عالية من مضادات الاكسدة كالزيوت الطيارة والكاروتينات وحامض الأسكوربيك لذلك لا يعتمد تقييم الفعالية المضادة للاكسدة على محتواها من المركبات الفينولية فقط وانما تساهم المركبات الاخرى في نشاطها لكسح وازالة الجذور الحرة (Ozcan-Sinir واخرون،2019).



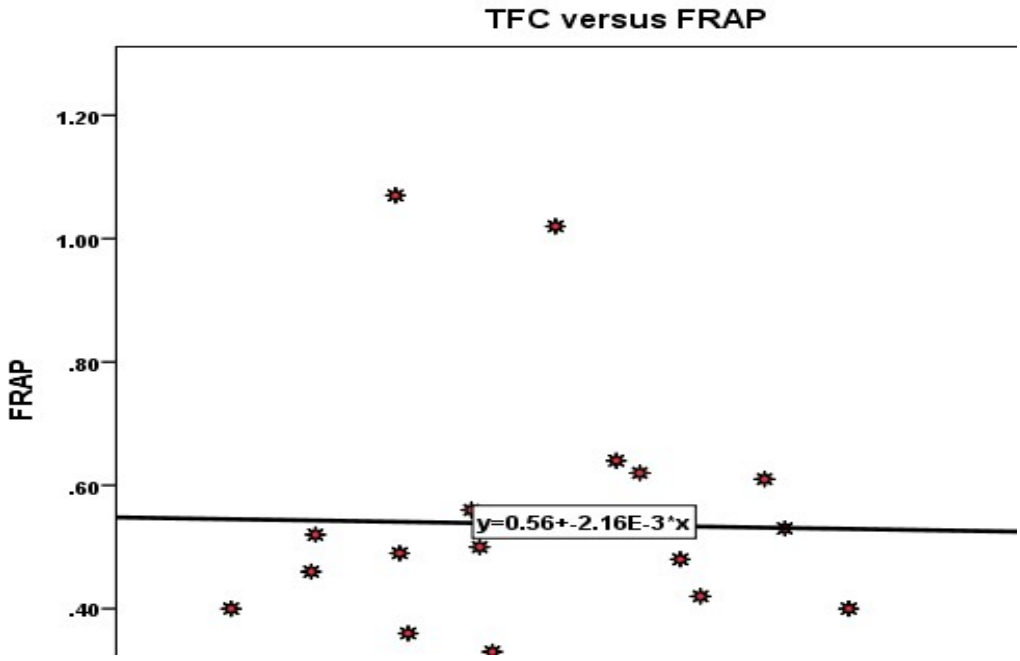
شكل (14) معامل الارتباط الخطي بين (TPC) و(DPPH)



شكل(15) معامل الارتباط الخطي بين (TFC) و (DPPH)



شكل (16) معامل الارتباط الخطي بين(TPC) و (FRAP)



شكل(17) معامل الارتباط الخطي بين(TFC) و (FRAP)

5- الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendations

5-1 الاستنتاجات Conclusions

1. يوجد اكثر من نوع من المركبات الفعالة في اجزاء نبات البرتقال والتي يمكن ان تعمل كمضادات أكسدة طبيعية ,وسجلت الفيتامينات أعلى تركيز مقارنة بالمركبات الفعالة الاخرى .
2. حققت أوراق البرتقال أعلى محتوى من الفينولات الكلي تليها الازهار ثم البذور مقارنة بالاجزاء النباتية الاخرى. بينما تم الحصول على أعلى قيمة لمحتوى الفلافونيدات الكلي من القشرة الوسطى للثمار تليها البذور ثم الازهار.
3. وجدت اعلى قيمة للفعالية المضادة للاكسدة في الازهار تليها البذور ثم القشرة الخارجية للثمار مما يؤكد ان مخلفات نبات البرتقال اكثر فاعلية من الاجزاء الصالحة للاكل .
4. تعتمد قيم الفعالية المضادة للاكسدة على الجزء النباتي ونوع المركب الفعال وليس تركيزه.
5. توجد علاقة ارتباطية متوسطة بين المحتوى الفينولي الكلي والمحتوى الفلافونيدي الكلي مع الفعالية المضادة للاكسدة.

5-2 التوصيات Recommendations

1. عزل وتنقية المركبات الفعالة في نبات البرتقال واستعمالها كمضادات اكسدة طبيعية وفي صناعة العقاقير الطبية فضلا عن امكانية استعمالها كمواد حافظة للمنتجات الغذائية.
2. اجراء المزيد من الدراسات عن انواع الحمضيات الاخرى وامكانية الاستفادة من مركباتها الفعالة في انتاج مضادات الاكسدة الطبيعية.
3. استعمال الطرائق الحديثة في الكشف عن المركبات الفعالة وخاصة في النباتات الطبية.
4. الاستفادة من مخلفات نبات البرتقال كالاوراق والقشور والبذورفي تطبيقات عملية متعددة .

المصادر References

المصادر العربية

- **التكريتي، شهباء رافع (2017).** دراسة المستخلص الخام للكاروتينات لقشور بعض الحمضيات واستخدامها في التصنيع الغذائي. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة تكريت.
- **الجهاز المركزي للإحصاء (2019).** نتائج التعداد الزراعي، وزارة التخطيط –العراق.
- **الزبيدي، مازن محمد (2013).** دراسة التأثير المضاد للأكسدة لمستخلص قشور ثمار البرتقال. مجلة تكريت للعلوم الزراعية، 13(1)، 25-32.
- **الزبيدي، مصطفى نبيل و التكريتي، سموأل سعدي (2016).** تأثير أضافة مستويات مختلفة من المستخلص المائي لقشور البرتقال (*Citrus sinensis*) في صفات الدم الفسلجية لفروج اللحم. مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية، 16(3)، 144-151.
- **القيسي، وفاق أمجد و الحياني، ايمان حسين ومحمود، رهف وائل (2015).** تأثير مستخلص قشور البرتقال والليمون الصناعي في نمو وحاصل نبات الشعير *Hordeum vulgare* L. مجلة كلية التربية الاساسية، 21(88)، 41-55.
- **حسين، وسن صالح و سعيد، جنان عبد الخالق و المعاضيدي، عامر محسن (2018).** الكشف عن المركبات الفعالة في مخلفات بعض الأنواع النباتية وعزل وتشخيص المركبات الاليلوباثية باستخدام تقنية HPLC. مجلة علوم الرافدين، 27(5) ، 32 -41.
- **رامز، محمد و فؤاد، سلمان وجمل، نورا (2017).** دراسة أثر إضافة مطحون قشور البرتقال الناتجة عن تصنيع عصير البرتقال على أهم خصائص البسكويت فضلاً عن تحسين المُنتَج بإضافة إنزيم الإكزيلينيز. مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية-سلسلة العلوم البيولوجية، 38(4)،133- 139.
- **عبيد، اياد عاصي و داود ،وسام مالك و ناصر، نور صبري (2013).** استجابة بذور اللالنكي كليمنتاين للإنبات وتكوين الكالس وإنتاج القلويدات والهورمونات خارج الجسم الحي. مجلة مركز بحوث التقنيات الاحيائية، 7(2)، 13-23.

،

المصادر الاجنبية

- **Abobatta, W. F. (2019).** *Citrus* varieties in Egypt: An impression. Int Res J Appl Sci, 1(1), 63-66.
- **Abubakar, A. and Haque, M. (2020).** Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. Journal of Pharmacy , 12(1), 1-9.
- **Adewole, E., Adewumi, D. F., Jonathan, J., and Fadaka, A. O. (2014).** Phytochemical constituents and proximate analysis of orange peel (*Citrus* fruit). Journal of advanced Botany and Zoology, 1(3), 1-2.
- **Al Juhaimi, F., Özcan, M. M., Uslu, N., and Ghafoor, K. (2018).** The effect of drying temperatures on antioxidant activity, phenolic compounds, fatty acid composition and tocopherol contents in *Citrus* seeds and oils. Journal of food science and technology, 55(1), 190-197.
- **Al-Anbari, A. K.(2014)**. A Comparative Systematic Study of *Citrus* L. (Rutaceae) taxa in Iraq. Ph.D. thesis. College of education for pure science Ibn AL-Haitham .University of Baghdad.
- **Al-Anbari, A. K., Alkhesraji, T. A., Al-Mashhadani, A., and Aljewari, H. (2013).** Determination of chemical compounds in *Citrus* species in Iraq. Int J Adv Res, 1(7), 555-562.
- **Al-Anbari, A. K. H., & Hasan, M. A. (2015).** Antioxidant activity in some *Citrus* leaves and seeds ethanolic extracts. AABES London UK, 93-97.
- **Al-idee, T., Habbal, H., and Karabet, F.(2020)** Determination of the Optimum Extraction Conditions of Carotenoid from Orange

Peel by Response Surface Methodology. Journal of Materials and Environmental,11(7), 1141-1149.

- **Al-Mahdawe, M. M., Al-Mallah, M. K., and Ahmad, T. A. (2018).** Isolation and identification of rutin from tissues cultures of *Ruta graveolens* L. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 10(6), 1517-1520.
- **Al-Mashea, R. A., Al-Taie, G. R. I., Saddon, N., and Al-Anbari, A. K. (2018).** A comparative study of the phenolic compounds of some Brassicaceae taxa by High-performance liquid chromatography (HPLC) technique. Tikrit Journal of Pure Science, 23(2), 45-48.
- **Al-Snafi, A. E. (2016).** Nutritional value and pharmacological importance of *Citrus* species grown in Iraq. IOSR Journal of Pharmacy, 6(8), 76-108.
- **Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A. and Lightfoot, D. A. (2017).** Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. Plants, 6(4), 42-51.
- **Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., and Weil, J. A. (2004).** Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. Food chemistry, 84(4), 551-562.
- **Arman, M. S. I., Al Mahmud, A., Mahmud, H. R., and Reza, A. A. (2019).** Free radical, oxidative stress and diabetes mellitus: A mini review. Discovery Phytomedicine, 6(3), 99-101.
- **Asif, M. (2015).** Chemistry and antioxidant activity of plants containing phenolic compounds. Chemistry International, 1(1), 35-52.

- **Asowata-Ayodele, M. A., Dabesor, P. A., and Afolabi, B. (2019).** Phytochemical Compositions and Antimicrobial Activities of *Citrus sinensis* and *Citrus aurantifolia* Peels on Selected Pathogenic Bacteria Isolated from Jollof Rice. International Journal of Pathogen Research,8(5) 1-7.
- **Auad, P., Spier, F., and Gutterres, M. (2020).** Vegetable tannin composition and its association with the leather tanning effect. Chemical Engineering Communications, 207(5), 722-732.
- **Azman, N. F. I. N., Azlan, A., Khoo, H. E., and Razman, M. R. (2019).** Antioxidant properties of fresh and frozen peels of *Citrus* species. Current Research in Nutrition and Food Science Journal, 7(2), 331-339.
- **Ballard, C. R., and Junior, M. R. M. (2019).** Health Benefits of Flavonoids. In Bioactive Compounds. Woodhead Publish: an overview. Journal of nutritional science. 5(1), 185-201.
- **Bentahar, A., Bouaziz, A., Djidel, S., and Khennouf, S. (2020).** Phenolic content and antioxidant activity of ethanolic extracts from *Citrus sinensis* L. and *Citrus reticulata* L. fruits. Journal of Drug Delivery and Therapeutics, 10(5) ,308-313.
- **Bhuiyan, F. R., Hasan, M., and Imran, A. S. (2019).** Antimicrobial activity screening for three *Citrus* pulp extracts and phytochemical constituency profiling. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 8(4), 157-161.
- **Biswas, S., Das, R., and Banerjee, E. R. (2017).** Role of free radicals in human diseases. AIMS Biophysics, 4(4), 596-614.

- **Carocho, M., Morales, P., and Ferreira, I. C. (2018).** Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. Food Science & Technology, 71(4), 107-120.
- **Carr, A. C. (2020).** A new clinical trial to test high-dose vitamin C in patients with COVID-19. Critical Care, 24(1), 1-2.
- **Carvalho, L. V., Hacon, S. S., Vega, C. M., Vieira, J. A., Larentis, A. L., Mattos, R. C., and Oliveira, B. F. (2019).** Oxidative stress levels induced by mercury exposure in Amazon juvenile populations in Brazil. International journal of environmental research and public health, 16(15), 2682 -2689.
- **Chen, H., Cui, H., Zhang, M., Hayat, K. and Zhang, X. (2019).** Improving the Flavor and Oxidation Resistance of Processed Sunflower Seeds with Maillard Peptides. Food and bioprocess technology, 12(5), 809-819.
- **Chen, Q., Wang, D., Tan, C., Hu, Y., Sundararajan, B., and Zhou, Z. (2020).** Profiling of Flavonoid and Antioxidant Activity of Fruit Tissues from 27 Chinese Local *Citrus* Cultivars. Plants, 9(2), 196-203.
- **Cheng, S. H., Khoo, H. E., Kong, K. W., Prasad, K. N., and Galanakis, C. M. (2020).** Extraction of carotenoids and applications. In Carotenoids: Properties, Processing and Applications .Academic Press. 1(2) ,259-288.
- **Choudhury, F. K., Rivero, R. M., Blumwald, E., and Mittler, R. (2017).** Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. The Plant Journal, 90(5), 856-867.

- **Ciulu, M., Solinas, S., Floris, I., Panzanelli, A., Pilo, M. and Sanna, G. (2011).** RP-HPLC determination of water-soluble vitamins in honey. Talanta, 83(3), 924-929.
- **Colunga Biancatelli, R. M. L., Berrill, M., Catravas, J. and Marik, P**. (**2020**). Quercetin and vitamin C: an experimental, synergistic therapy for the prevention and treatment of SARS-CoV-2 related disease (COVID-19). Frontiers in immunology, 11(2) 1451-1458.
- **Crizel, T. D. M., Rios, A. D. O., Thys, R. C. S. and Flôres, S. H. (2015).** Effects of orange by-product fiber incorporation on the functional and technological properties of pasta. Food Science and Technology, 35(3), 546-551.
- **Cushnie, T. T., Cushnie, B. and Lamb, A. J. (2014).** Alkaloids: an overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. International Journal of Antimicrobial Agents, 44(5), 377-386.
- **Dacruz, R. G., Beney, L., Gervais, P., De Lira, S. P., de Souza Vieira, T. M. F., and Dupont, S. (2019).** Comparison of the antioxidant property of acerola extracts with synthetic antioxidants using an in vivo method with yeasts. Food chemistry, 277 (2), 698-705.
- **Dai, J., and Mumper, R. J. (2010).** Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules, 15(10), 7313-7352.
- **Darvishpor, S., Hosseini, A., Davoodi, A., Salehifar, E., Akbari, J., and Azadbakht, M. (2018).** A review on medicinal plants used

for nausea and vomiting in Persian Medicine. Global Journal Inc, 18(1)30-41.

- **Davies, B. H. (1965).** Analysis of carotenoid pigments. In'Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments'.(Ed. TW Goodwin.) pp. 489-532.
- **Dawid, C., and Hofmann, T. (2014).** Quantitation and bitter taste contribution of saponins in fresh and cooked white asparagus (*Asparagus officinalis* L.). Food chemistry, 145(1), 427-436.
- **Denaro, M., Smeriglio, A., and Trombetta, D. (2021).** Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of *Citrus* Flavanones Mix and its Stability after In Vitro Simulated Digestion. Antioxidants, 10(2), 140-152.
- **Deshmukh, S. V., Prabhakar, B., and Kulkarni, Y. A. (2020).** Water soluble vitamins and their role in diabetes and its complications. Current diabetes reviews, 16(7), 649-656.
- **Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, E. B., Cicala, C., Caiazzo, E., Izzo, A. and Santini, A. (2019).** Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. Phytotherapy Research, 33(9), 2221-2243.
- **Dzah, C. S., Duan, Y., Zhang, H., Wen, C., Zhang, J., Chen, G., and Ma, H. (2020).** The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. Food Bioscience, 100547.
- **El-Desoukey, R. M. (2018).** The Phytochemical and Antimicrobial Effect of *Citrus sinensis* (Orange) Peel Powder Extracts on Some Animal Pathogens . EC Microbiology, 14(1), 312-318.

- **El-Rahman, A., Darwish, S., Megali, H. K., El-Hakim, A., and Hassan, I. (2019).** Characterization of β-carotene Extracted from Orange Peels and its Use as a Natural Colorant and Antioxidant in Ice Cream. Egyptian Journal of Food Science, 47(2), 173-185.
- **Etebu, E., and Nwauzoma, A. B. (2014).** A review on sweet orange (*Citrus sinensis L Osbeck*): health, diseases and management. American Journal of Research Communication, 2(2), 33-70.
- **Ezeabara, C. A., Okeke, C. U., Ilodibia, C. V., and Aziagba, B. O. (2014).** Determination of tannin content in various parts of six *Citrus* species. Journal of Scientific Research and Reports, 5(3),1384-1392.
- **Farag, M. A., Abib, B., Ayad, L., and Khattab, A. R. (2020).** Sweet and bitter oranges: An updated comparative review of their bioactives, nutrition, food quality, therapeutic merits and biowaste valorization practices. Food Chemistry, 127306.
- **Farhangi, H., Ajilian, M., Saeidi, M., and Khodaei, G. H. (2014).** Medicinal fruits in holy Quran. International Journal of Pediatrics, 32(2), 89-102.
- **Favela-Hernández, J. M. J., González-Santiago, O., Ramírez-Cabrera, M. A., Esquivel-Ferriño, P. C., and Camacho-Corona, M. D. R. (2016).** Chemistry and Pharmacology of *Citrus sinensis*. Molecules, 21(2), 247-261.
- **Fraga, C. G., Croft, K. D., Kennedy, D. O., and Tomás-Barberán, F. A. (2019).** The effects of polyphenols and other bioactives on human health. Food & function, 10(2), 514-528.

- **Fraga-Corral, M., García-Oliveira, P., Pereira, A. G., Lourenço-Lopes, C., Jimenez-Lopez, C., Prieto, M. A., and Simal-Gandara, J. (2020).** Technological Application of Tannin-Based Extracts. Molecules, 25(3), 614-621.
- **Gao, T. B., Wei, F., Tian, J. G., and Lin, R. C. (2002).** Determination of Aescin Ia in *Aesculus chinesis* bunge Preparation by HPLC. Journal of Instrumental Analysis, 21(6), 94-95.
- **Ghasemi, K., Ghasemi, Y., and Ebrahimzadeh, M. A. (2009).** Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. Pak J Pharm Sci, 22(3), 277-281.
- **Gouveia, S., and Castilho, P. C. (2011).** Antioxidant potential of *Artemisia argentea* L'Hér alcoholic extract and its relation with the phenolic composition. Food Research International, 44(6), 1620-1631.
- **Gupta, P., Jyoti, R. B., and Gupta, S. (2019).** Free Radical Pharmacology and its role in various diseases. Journal of Drug Delivery and Therapeutics, 9(2), 690-694.
- **Gutiérrez, G., Rodríguez, I., Lara, B., Ruiz-Moreno, M., and Del Coso, J.** (**2020**). p-Synephrine, the main protoalkaloid of *Citrus aurantium*, raises fat oxidation during exercise in elite cyclists. European Journal of Sport Science,2(4), 1-10.
- **Hadi, M.R. (2017).** Bioavailability of Ampicillin in Sera Healthy Volunteers. Msc. Thesis. College of Science. Diyala University.
- **Hara, K. Y., Kageyama, Y., Tanzawa, N., Hirono-Hara, Y., Kikukawa**, **H., and Wakabayashi, K. (2021).** Development of astaxanthin production from citrus peel extract using

Xanthophyllomyces dendrorhous. Environmental Science and Pollution Research, 28(10), 12640-12647.

- **Hernández, A., Ruiz-Moyano, S., Galván, A. I., Merchán, A. V., Nevado, F. P., Aranda, E.& Martín, A. (2020).** Anti-fungal activity of phenolic sweet orange peel extract for controlling fungi responsible for post-harvest fruit decay. Fungal Biology.In Press.
- **Huerta-Ochoa, S., Castillo-Araiza, C. O., Guerrero, A. R., and Prado-Barragán, A. (2019).** Whole-cell bioconversion of *Citrus* flavonoids to enhance their biological properties. Studies in Natural Products Chemistry, 2 (61),335-367.
- **Hussein, A. M., Mahmoud, K. F., Hegazy, N. A., Kamil, M. M., Mohammad, A. A., and Mehaya, F. M. (2019).** Efficiency of Nano Encapsulated Orange Peel Essential Oils on Quality of Sponge Cake. Science and Technology, 12(1), 26-37.
- **Ifeanyi, O. E. (2018).** A review on free radicals and antioxidants. International Journal of Current Research in Medical Sciences, 4(2), 123-133.
- **Iglesias-Carres, L., Mas-Capdevila, A., Bravo, F. I., Aragonès, G., Muguerza, B., and Arola-Arnal, A. (2019).** Optimization of a polyphenol extraction method for sweet orange pulp (*Citrus sinensis* L.) to identify phenolic compounds consumed from sweet oranges. PloS one, 14(1), 211-219.
- **Ismaeel, A., Holmes, M., Papoutsi, E., Panton, L., and Koutakis, P. (2019).** Resistance Training, Antioxidant Status, and Antioxidant Supplementation. International journal of sport nutrition and exercise metabolism, 29(5), 539-547.

- **Jridi, M., Boughriba, S., Abdelhedi, O., Nciri, H., Nasri, R., Kchaou, H., and Nasri, M. (2019).** Investigation of physicochemical and antioxidant properties of gelatin edible film mixed with blood orange (*Citrus sinensis*) peel extract. Food Packaging and Shelf Life, 21, 100342.
- **Jucá, M. M., Cysne Filho, F. M. S., de Almeida, J. C., Mesquita, D. D. S., Barriga, J. R. D. M., Dias, K. C. and Vasconcelos, S. M. M. (2020).** Flavonoids: biological activities and therapeutic potential. Natural product research, 34(5), 692-705.
- **Kaleem, M., and Ahmad, A. (2018).** Flavonoids as nutraceuticals. In Therapeutic, probiotic, and unconventional foods . Academic Press.1(1),137-155
- **Kapoor, D., Singh, S., Kumar, V., Romero, R., Prasad, R., and Singh, J. (2019).** Antioxidant enzymes regulation in plants in reference to reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS). Plant Gene, 19, 100182.
- **Karn, A., Zhao, C., Yang, F., Cui, J., Gao, Z. and Zheng, J. (2020).** In-vivo biotransformation of *Citrus* functional components and their effects on health. Food Science and Nutrition, 5(7),1-21.
- **Kashiouris, M. G., L'Heureux, M., Cable, C. A., Fisher, B. J., and Leichtle, S. W. (2020).** The emerging role of vitamin C as a treatment for sepsis. Nutrients, 12(2), 292-299.
- **Kato, M., and Nakayama, F. (2018).** Caffeine. In Biotechnology of Natural Products .Springer, Cham.1(2),131-143.

- **Kausar, S., Wang, F., and Cui, H. (2018).** The role of mitochondria in reactive oxygen species generation and its implications for neurodegenerative diseases. Cells, 7(12), 274-279.
- **Kegele, C. S., Oliveira, J., Magrani, T., Ferreira, A., de Souza Ferreira, R., and Polonini, H. C. (2019).** A randomized trial on the effects of *Citrus sinensis* L.Osbeck dried extract on body composition. Clinical Nutrition Experimental, 27(1), 29-36.
- **Kosowska, M., and Majcher, M. (2017).** Volatile compounds in meat and meat products. Food Science and Technology, 37(1), 1-7.
- **Kohnen-Johannsen, K. and Kayser, O. (2019).** Tropane alkaloids: Chemistry, pharmacology, biosynthesis and production. Molecules, 24(4), 796-811.
- **Koolaji, N., Shammugasamy, B., Schindeler, A., Dong, Q., Dehghani, F., and Valtchev, P. (2020).** *Citrus* peel flavonoids as potential cancer prevention agents. Current Developments in Nutrition, 4(5), 25-32.
- **Kretschmar, J. A. and Baumann, T. W. (1999).** Caffeine in *Citrus* flowers. Phytochemistry, 52(1), 19-23.
- **Kumar, N., and Goel, N. (2019).** Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. Biotechnology Reports, 24, 370-379.
- **Kurutas, E. B. (2015).** The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. Nutrition journal, 15(1),53-59.
- **Lado, J., Alós, E., Manzi, M., Cronje, P. J., Gómez-Cadenas, A., Rodrigo, M. J., and Zacarías, L. (2019).** Light regulation of

carotenoid biosynthesis in the peel of mandarin and sweet orange fruits. Frontiers in plant science, 10, 1288-1298.

- **Liew, S. S., Ho, W. Y., Yeap, S. K., and Sharifudin, S. A. B. (2018).** Phytochemical composition and in vitro antioxidant activities of *Citrus sinensis* peel extracts. PeerJ, 6,5331.
- **Liu, Y., Heying, E., and Tanumihardjo, S. A. (2012).** History, global distribution, and nutritional importance of *Citrus* fruits. Comprehensive reviews in Food Science and Food safety, 11(6), 530-545.
- **Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., and Chandra, N. (2010).** Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacognosy reviews, 4(8), 118-126.
- **Lykkesfeldt, J. (2020).** On the effect of vitamin C intake on human health: How to (mis) interprete the clinical evidence. Redox Biology, 101532.
- **Ma, G., Zhang, L., Sugiura, M., and Kato, M. (2020).** *Citrus* and health. The Genus *Citrus* . Woodhead Publishing.9(2),495-511.
- **Mahato, N., Sinha, M., Sharma, K., Koteswararao, R., and Cho, M. H. (2019).** Modern Extraction and Purification Techniques for Obtaining High Purity Food-Grade Compounds and Value-Added Co-Products from *Citrus* Wastes. Foods, 8(11), 523-542.
- **Mandal, A., Manohar, B., Shetty, N., Mathur, A. and Sen, N. (2018).** A Comparative Evaluation of Anti-Inflammatory Efficacy of *Citrus Sinesis* Mouthwash and Chlorhexidine Mouthwash. Journal of Nepalese Society of Periodontology and Oral Implantology, 2(1), 9-13.

- **Mannucci, C., Calapai, F., Cardia, L., Inferrera, G., D'Arena, G., Di Pietro, M. and Calapai, G. (2018).** Clinical Pharmacology of *Citrus aurantium* and *Citrus sinensis* for the Treatment of Anxiety. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 3624094.
- **Martín, J., Navas, M. J., Jiménez-Moreno, A. M. and Asuero, A. G. (2017).** Anthocyanin pigments: Importance, sample preparation and extraction. Phenolic compounds–Natural sources, importance and applications. InTech, 3(6),117-152.
- **Mattila, P., and Kumpulainen, J. (2002).** Determination of free and total phenolic acids in plant-derived foods by HPLC with diode-array detection. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(13), 3660-3667.
- **Mezzomo, N., and Ferreira, S. R. (2016).** Carotenoids functionality, sources, and processing by supercritical technology: a review. Journal of Chemistry,6 (2)16-22.
- **Milind, P. and Dev, C. (2012).** Orange: range of benefits. Int Res J Pharm, 3(7), 59-63.
- **Minocha, S. (2015).** An Overview on Tannins. International Journal of Pharmaceutical and Biological Science Archive, 3(2),61-69.
- **Mittler, R. (2017).** ROS are good. Trends in plant science, 22(1), 11-19
- **Mohammed, M. T., Kadhim, S. M., Jassimand, A. M. N. and Abbas, S. I. (2015).** Free radicals and human health. International Journal of Innovation Sciences and Research, 4(6), 218-223.

- **Molan, A. L., Ismail, M. H., & Nsaif, R. H. (2016).** Phenolic contents and antioxidant activity of peels and seeds of orange (*Citrus sinensis*) cultivated in Iraq. World J Pharm Sci, 5(4), 473-482.
- **Mondal, A., Gandhi, A., Fimognari, C., Atanasov, A. G. and Bishayee, A. (2019).** Alkaloids for cancer prevention and therapy: Current progress and future perspectives. European journal of pharmacology, 858, 172472.
- **Monsef-Esfahani, H. R., Faramarzi, M. A., Mortezaee, V., Amini, M. and Rouini, M. R. (2008).** Determination of harmine and harmaline in *Peganum harmala* seeds by high-performance liquid chromatography. JApSc, 8(9), 1761-1765.
- **Montero-Calderon, A., Cortes, C., Zulueta, A., Frigola, A. and Esteve, M. J. (2019).** Green solvents and Ultrasound-Assisted Extraction of bioactive orange (*Citrus sinensis*) peel compounds. Scientific reports, 9(1), 1-8.
- **Morimoto, M., Hashimoto, T., Tsuda, Y., Kitaoka, T., and Kyotani, S. (2019).** Evaluation of oxidative stress and antioxidant capacity in healthy children. Journal of the Chinese Medical Association, 82(8), 651-654.
- **Murador, Daniella C., Anna Rafaela C. Braga, Paula LG Martins, Adriana Z. Mercadante, and Veridiana V. (2019)** "Ionic liquid associated with ultrasonic-assisted extraction: A new approach to obtain carotenoids from orange peel." Food Research International 126 (2).1-12
- **Musumeci, L. Maugeri, A., Cirmi, S., Russo, C., Gangemi, S., and Navarra, M. (2019).** *Citrus* fruits and their flavonoids in

inflammatory bowel disease: an overview. Natural product research ,6(3) ,1-15.

- **Nayak, B., Dahmoune, F., Moussi, K., Remini, H., Dairi, S., Aoun, O., and Khodir, M. (2015).** Comparison of microwave, ultrasound and accelerated-assisted solvent extraction for recovery of polyphenols from *Citrus sinensis* peels. Food Chemistry, 187(2), 507-516.
- **Niki, E. (2016).** Oxidative stress and antioxidants: distress or eustress?. Archives of biochemistry and biophysics, 595(2), 19-24.
- **O'Connor, S. E. (2010).** 1.25-Alkaloids. Comprehensive Natural Products II, 19(1), 977-1007.
- **Oikeh, E. I., Oviasogie, F. E., and Omoregie, E. S. (2020).** Quantitative phytochemical analysis and antimicrobial activities of fresh and dry ethanol extracts of *Citrus sinensis* L.Osbeck (sweet Orange) peels. Clinical Phytoscience, 6(1), 1-6.
- **Olabanji, I. O., Ajayi, S. O., Akinkunmi, E. O., Kilanko, O., and Adefemi, G. O. (2016).** Physicochemical and in vitro antimicrobial activity of the oils and soap of the seed and peel of *Citrus sinensis*. Afr. J. Microb. Res, 10(8), 245-253.
- **Olyad, E. R. B. A., Atomsa, D., Chimdessa, M., and Gonfa, T. (2020).** Determination of Flavonoid Contents and Evaluation of in vitro Antioxidant Activities of the Extract of *Citrus* Fruit Peel. International Journal of Secondary Metabolite, 7(1), 8-18.
- **Omoba, O. S., Obafaye, R. O., Salawu, S. O., Boligon, A. and Athayde, M. L. (2015).** HPLC-DAD phenolic characterization

and antioxidant activities of ripe and unripe sweet orange peels. Antioxidants, 4(3), 498-512.

- **Othman, L., Sleiman, A. and Abdel-Massih, R. M. (2019).** Antimicrobial Activity of Polyphenols and Alkaloids in Middle Eastern Plants. Frontiers in microbiology, 10(1), 911-919.
- **Ozcan-Sinir, G., Ozkan-Karabacak, A., Tamer, C. E., and Copur, O. U. (2019).** The effect of hot air, vacuum and microwave drying on drying characteristics, rehydration capacity, color, total phenolic content and antioxidant of Kumquat (*Citrus japonica*). Food Science and Technology, 39(2), 475-484 .
- **Panche, A. N., Diwan, A. D. and Chandra, S. R. (2016).** Flavonoids: an overview. Journal of nutritional science, 5(3),20-32.
- **Peñarrieta, J. M., Alvarado, J. A., Akesson, B. and Bergenståhl, B. (2007).** Separation of phenolic compounds from foods by reversed-phase high performance liquid chromatography. Revista Boliviana De Quimica, 24(1), 1-4.
- **Pereira, D. M., Valentão, P., Pereira, J. and Andrade, P. B. (2009).** Phenolics: From chemistry to biology. Molecules,14062202.
- **Petry, F. C., and Mercadante, A. Z. (2018).** New Method for Carotenoid Extraction and Analysis by HPLC-DAD-MS/MS in Freeze-Dried *Citrus* and *Mango* Pulps. Journal of the Brazilian Chemical Society, 29(1), 205-215.
- **Petrotos, K., Giavasis, I., Gerasopoulos, K., Mitsagga, C., Papaioannou**, **C. and Gkoutsidis, P. (2021).** Optimization of Vacuum-Microwave-Assisted Extraction of Natural Polyphenols and Flavonoids from Solid Waste of the Orange

Juice Producing Industry at Industrial Scale. Molecules, 26(1), 246-256.

- **Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008).** Free radicals, antioxidants in disease and health. International journal of biomedical science ;4(2):89-99.
- **Phaniendra, A., Jestadi, D. B., and Periyasamy, L. (2015).** Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in diseases. Indian journal of clinical biochemistry, 30(1), 11-26.
- **Pizzi, A. (2019).** Tannins: Prospectives and actual industrial applications. Biomolecules, 9(8), 344-348.
- **Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F. and Bitto, A. (2017).** Oxidative stress: harms and benefits for human health. Oxidative medicine and cellular longevity ,3(2),33-45.
- **Pratiwi, F., Tinata, J. K., Prakasa, A. W., Hartini, E., and Isworo, S. (2017).** Citric acid compounds of tangerines peel extract (*Citrus reticulata*) as potential materials teeth whitening. In Journal of Physics: Conference Series. IOP Publishing,824(1),71-79.
- **Qadir, R., Farooq Anwar, T. M., Shahid, M. and Zahoor, S. (2018).** 34. Variations in chemical composition and haemolytic activities of peel essential oils from three local *Citrus* cultivars. Pure and Applied Biology (PAB), 7(1), 282-291.
- **Qian, H., and Sheng, M. (1998).** Simultaneous determination of fat-soluble vitamins A, D and E and pro-vitamin D2 in animal feeds by one-step extraction and high-performance liquid

chromatography analysis. Journal of Chromatography A, 825(2), 127-133.

- **Rafiq, S., Kaul, R., Sofi, A. and Nayik, G. A. (2018).** *Citrus* peel as a source of functional ingredient: A review. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 17(4), 351-358
- **Rahman, K. (2007).** Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. Clinical interventions in aging, 2(2), 219-227.
- **Rani, L., Sharma, N., Singh, S., and Grewal, A. S. (2019).** Therapeutic potential of Vitamin C: An overview of various biological activities. International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance, 10(04), 605-612.
- **Rashmi, H. B., and Negi, P. S. (2020).** Phenolic acids from vegetables: A review on processing stability and health benefits. Food Research International, 109298.
- **Reichert, C. L., Salminen, H., & Weiss, J. (2019).** Quillaja saponin characteristics and functional properties. Annual review of food science and technology, 10(1), 43-73.
- **Rodrigo, M. J., Cilla, A., Barberá, R., & Zacarías, L. (2015).** Carotenoid bioaccessibility in pulp and fresh juice from carotenoid-rich sweet oranges and mandarins. Food & function, 6(6), 1950-1959.
- **Rojas-Lema, S., Torres-Giner, S., Gomez-Caturla, J., Garcia-Garcia, D., and Balart, R. (2021).** On the Use of Phenolic Compounds Present in *Citrus* Fruits and Grapes as Natural Antioxidants for Thermo-Compressed Bio-Based High-Density Polyethylene Films. Antioxidants, 10(1), 14-22.

- **Rotta, E. M., Rodrigues, C. A., Jardim, I. and Visentainer, J. V. (2019).** Determination of phenolic compounds in passion fruit pulp (*Passiflora spp*.) using a modified QuEChERS method and UHPLC-MS/MS. LWT, 100(1), 397-403.
- **Saini, R. K., and Keum, Y. S. (2018).** Carotenoid extraction: A review of recent developments. Food Chemistry, 240, 90-103.
- **Setyawati, I., and Anggraeni, R. (2018).** Effectiveness of Sweet Orange Peel Extract (*Citrus sinensis*) on the Improvement of Liver Functions of Animal Trials Induced by Cigarette Smoke. Journal of Young Pharmacists, 10(2), 13-17.
- **Seidavi, A., Ebrahimi, A. S., Qotbi, A. A. and Gómez, J. A. (2015).** Effect of different levels of *Citrus sinensis* peel extract on broiler performance, blood parameters, thyroid gland activity and bone ash. Indian. J. Anim. Sci, 85(1), 1225-1228.
- **Sevindik, E., Aydin, A., and Yildirim, E. M. (2018).** Chemical Compositions and Antiproliferative Effect of *Citrus sinensis* and *Citrus aurantium* Flowers in The West Anatolian Ecological Conditions. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 21(4), 1011-1020.
- **Shahidi, F. (2000).** Antioxidants in food and food antioxidants. Food/nahrung, 44(3), 158-163.
- **Shahidi, F., and Zhong, Y. (2015).** Measurement of antioxidant activity. Journal of functional foods, 18(1), 757-781.
- **Sharma, G. N., Gupta, G., and Sharma, P. (2018).** A comprehensive review of free radicals, antioxidants, and their relationship with

human ailments. Critical Reviews™ in Eukaryotic Gene Expression, 28(2),33-44.

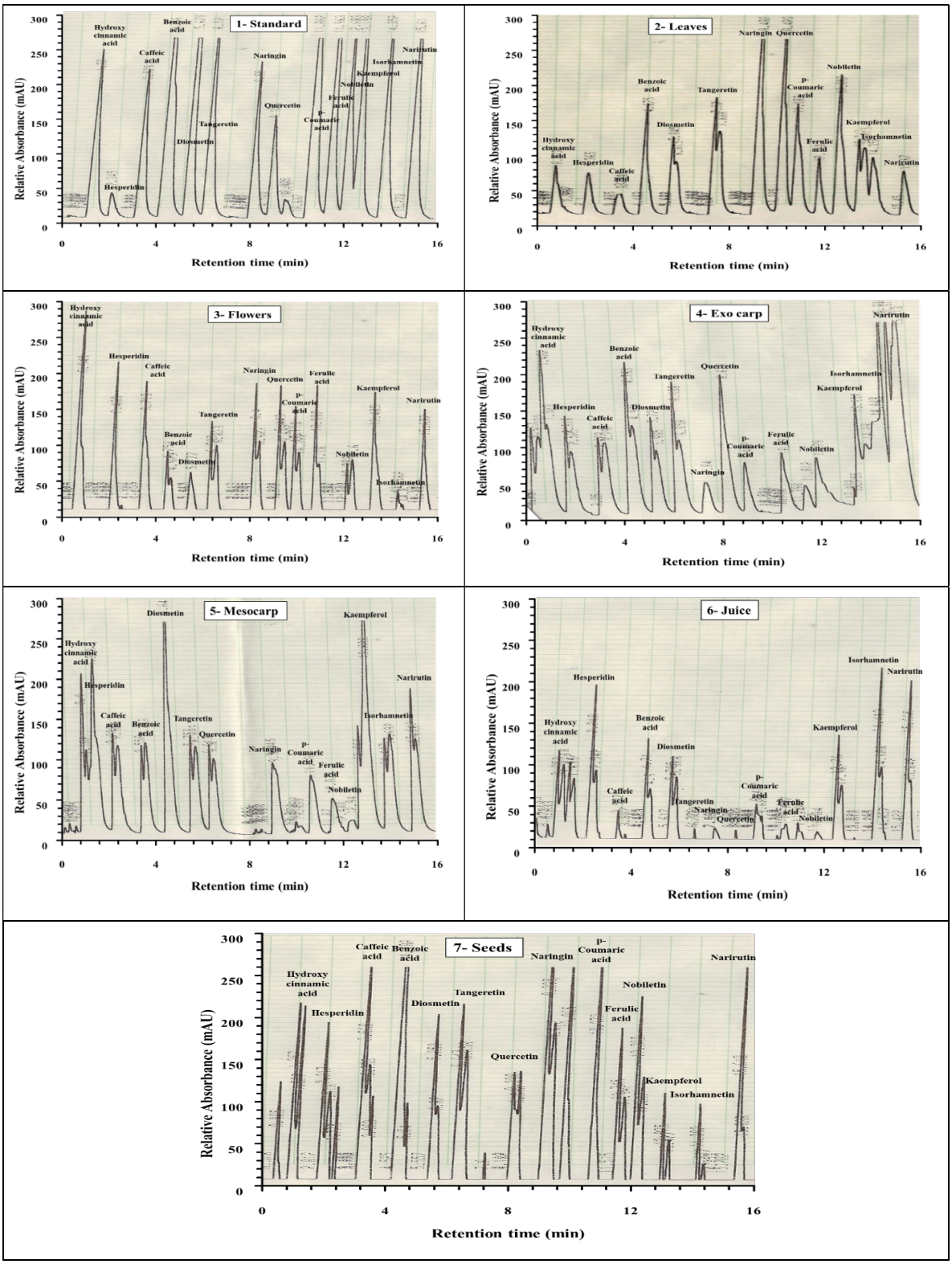
- **Sharma, K., Mahato, N., and Lee, Y. R. (2019).** Extraction, characterization and biological activity of *Citrus* flavonoids. Reviews in Chemical Engineering, 35(2), 265-284.
- **Sies, H. (2020).** Oxidative eustress and oxidative distress: Introductory remarks. In Oxidative Stress .Academic Press.3-12
- **Sies, H. (1985).** Hydroperoxides and thiol oxidants in the study of oxidative stress in intact cells and organs. Oxidative stress, 1(1), 73-90.
- **Singh, B., Singh, J. P., Kaur, A., and Singh, N. (2020).** Phenolic composition, antioxidant potential and health benefits of *Citrus* peel. Food Research International, 109114.
- **Singh, P. (2019).** In vitro Study of Antibacterial Activity by *Citrus aurantifolia* Fruit Peel, *Citrus limetta* Fruit Peel and *Citrus aurantifolia* Leaves against Oral Pathogens. J Microb Biochem Technol, 11(2),33-41.
- **Singleton, V. L., Orthofer, R., and Lamuela-Raventós, R. M. (1999).** [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. Methods in enzymology, 299(1), 152-178.
- **Sir Elkhatim, K. A., Elagib, R. A. and Hassan, A. B. (2018).** Content of phenolic compounds and vitamin C and antioxidant activity in wasted parts of Sudanese *citrus* fruits. Food science & nutrition, 6(5), 1214-1219.

- **Sohi, S., and Shri, R. (2018).** Comparative Pharmacognostic Evaluation of Leaves of *Citrus sinensis* Var. Jaffa and *Citrus paradisi* var. Redblush. Pharmacognosy Communications, 8(1), 43-48.
- **Sonfack, G., Fossi Tchinda, C., Simo, I. K., Bitchagno, G. T. M., Nganou, B. K., Çelik, İ. And Kuete, V. (2019).** Saponin with antibacterial activity from the roots of *Albizia adianthifolia*. Natural Product Research,1(2) ,1-9.
- **Sova, M., and Saso, L. (2020).** Natural Sources, Pharmacokinetics, Biological Activities and Health Benefits of Hydroxycinnamic Acids and Their Metabolites. Nutrients, 12(8), 2190-2199.
- **Suleman, M., Khan, A., Baqi, A., Kakar, M. S., and Ayub, M. (2019).**.Antioxidants, its role in preventing free radicals and infectious diseases in human body. Pure and Applied Biology (PAB), 8(1), 380-388.
- **Tan, B. L., and Norhaizan, M. E. (2019).** Carotenoids: How Effective Are They to Prevent Age-Related Diseases?. Molecules, 24(9), 1801-1812.
- **Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., and Byrne, D. H. (2006).** Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. Journal of food composition and analysis, 19(7), 669-675.
- **Tundis, R., Acquaviva, R., Bonesi, M., Malfa, G. A. & Loizzo, M. R. (2019).** *Citrus* Flavanones. Handbook of Dietary Phytochemicals,1(1), 1-30.

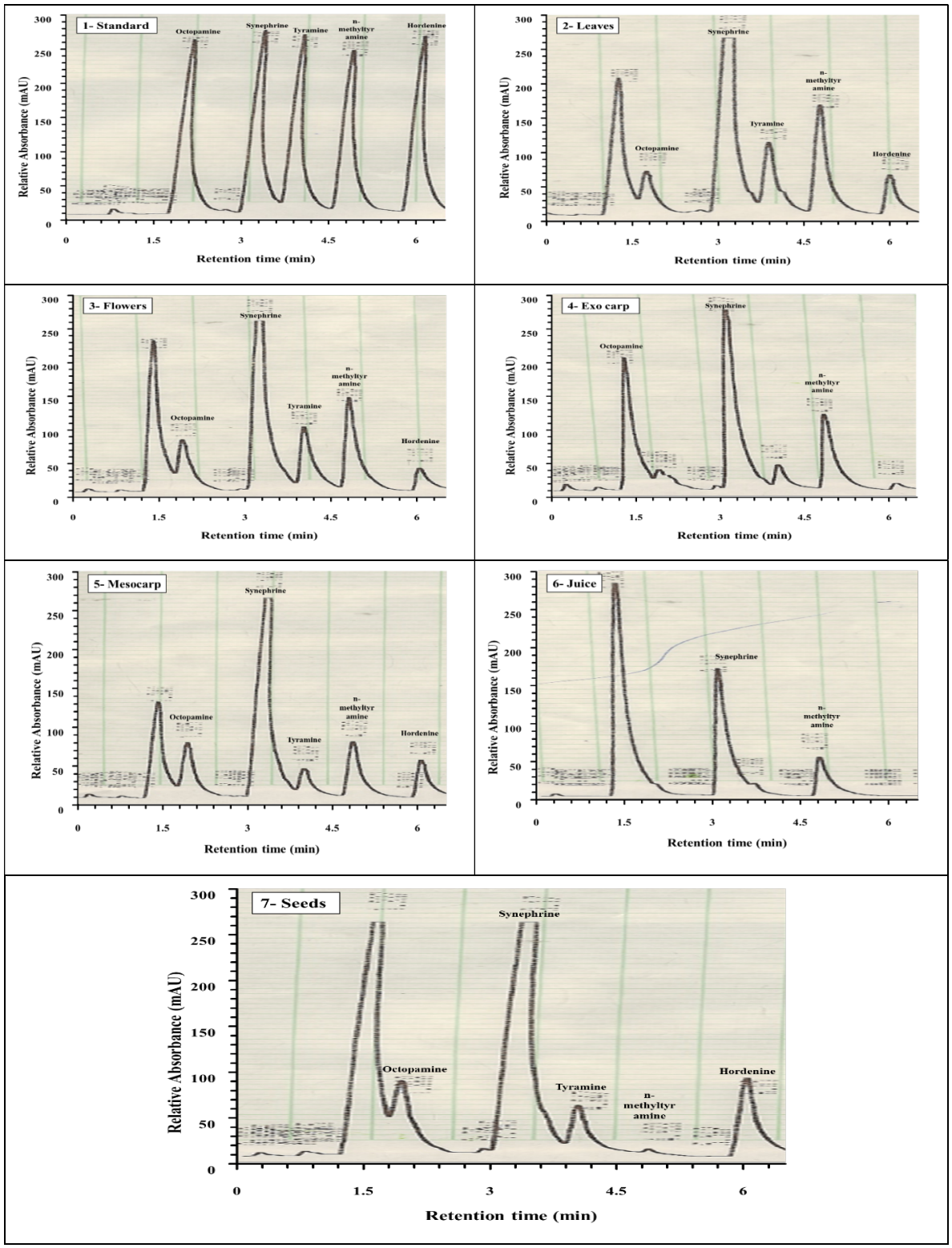
- **USDA- United States Department of Agriculture(2016**)Foreign Agricultural Service. Available at http:// www.fas.usda.gov/ data/ citrusworld- markets-and-trade (28 February 2016).
- **Verma, M. L., Sharma, S., Saini, R., Rani, V., and Kushwaha, R. (2020).** Bioflavonoids: Synthesis, functions and biotechnological applications. In Biotechnological Production of Bioactive Compounds,1 (1), 69-105.
- **Victor, M. M., David, J. M., Cortez, M. V., Leite, J. L., and Da Silva, G. S. (2020).** A High-Yield Process for Extraction of Hesperidin from Orange (*Citrus sinensis* L. osbeck) Peels Waste. Waste and Biomass Valorization,1(1), 1-8.
- **Wang, L., Jo, M. J., Katagiri, R., Harata, K., Ohta, M., Ogawa, A., and Lee, S. C. (2018).** Antioxidant effects of *Citrus* pomace extracts processed by super-heated steam. LWT, 90, 331-338.
- **Wisetkomolmat, J., Suppakittpaisarn, P., and Sommano, S. R. (2019).** Detergent Plants of Northern Thailand: Potential Sources of Natural Saponins. Resources, 8(1), 10-22.
- **Younus, H. (2018).** Therapeutic potentials of superoxide dismutase. International journal of health sciences, 12(3), 88-96.
- **Zakynthinos, G., and Varzakas, T. (2016).** Carotenoids: From plants to food industry. Current Research in Nutrition and Food Science, 4(1), 38-48.
- **Zhang, H., Chen, M., Wen, H., Wang, Z., Chen, J., Fang, L., and Xu, J. (2020).** Transcriptomic and metabolomic analyses provide insight into the volatile compounds of *Citrus* leaves and flowers. BMC Plant Biology, 20(1), 1-14.

- **Zhang, Y. and Jiao, B. (2019).** Simultaneous Determination of Six Protoalkaloids in Chinese Local Varieties of Loose-Skin Mandarins and Sweet Oranges by Strong Cation Exchange-High Performance Liquid Chromatography. Food Analytical Methods, 12(3), 677-686.
- **Zhang, H., Yang, Y. F. and Zhou, Z.** (**2018**). Phenolic and flavonoid contents of mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) fruit tissues and their antioxidant capacity as evaluated by DPPH and ABTS methods. Journal of Integrative Agriculture, 17(1), 256-263.
- **Zhao, C. N., Li, Y., Meng, X., Li, S., Liu, Q. and Li, H. B. (2018).** Insight into the roles of vitamins C and D against cancer: myth or truth, Cancer letters, 431(1), 161-170.
- **Zhao, C., Wang, F., Lian, Y. and Zheng, J. (2020).** Biosynthesis of *Citrus* flavonoids and their health effects. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 60(4), 566-583.

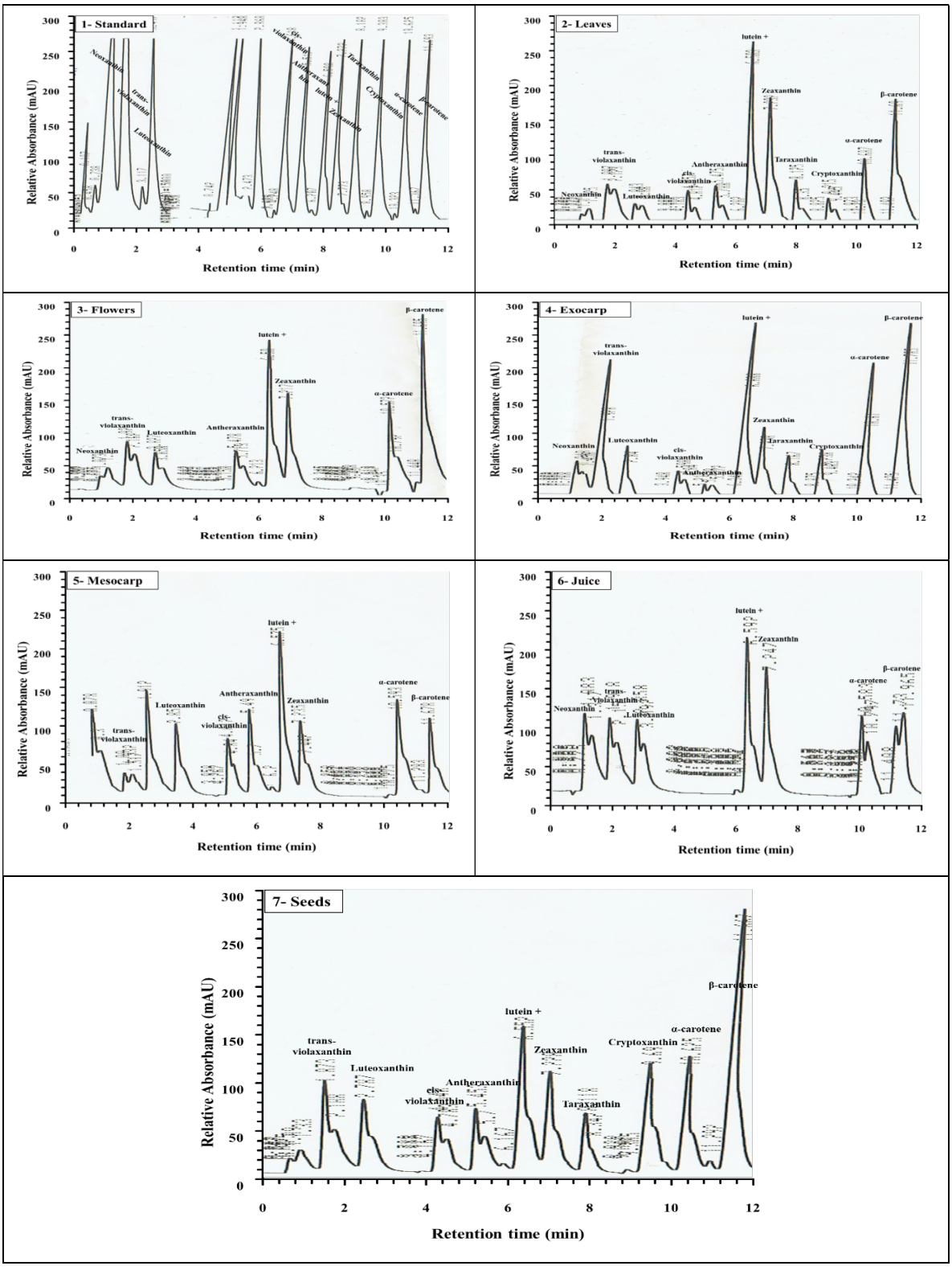
ملحق (1) التحليل الكروماتوجرافي للفينولات في بعض اجزاء نبات البرتقال باستعمال تقنية HPLC



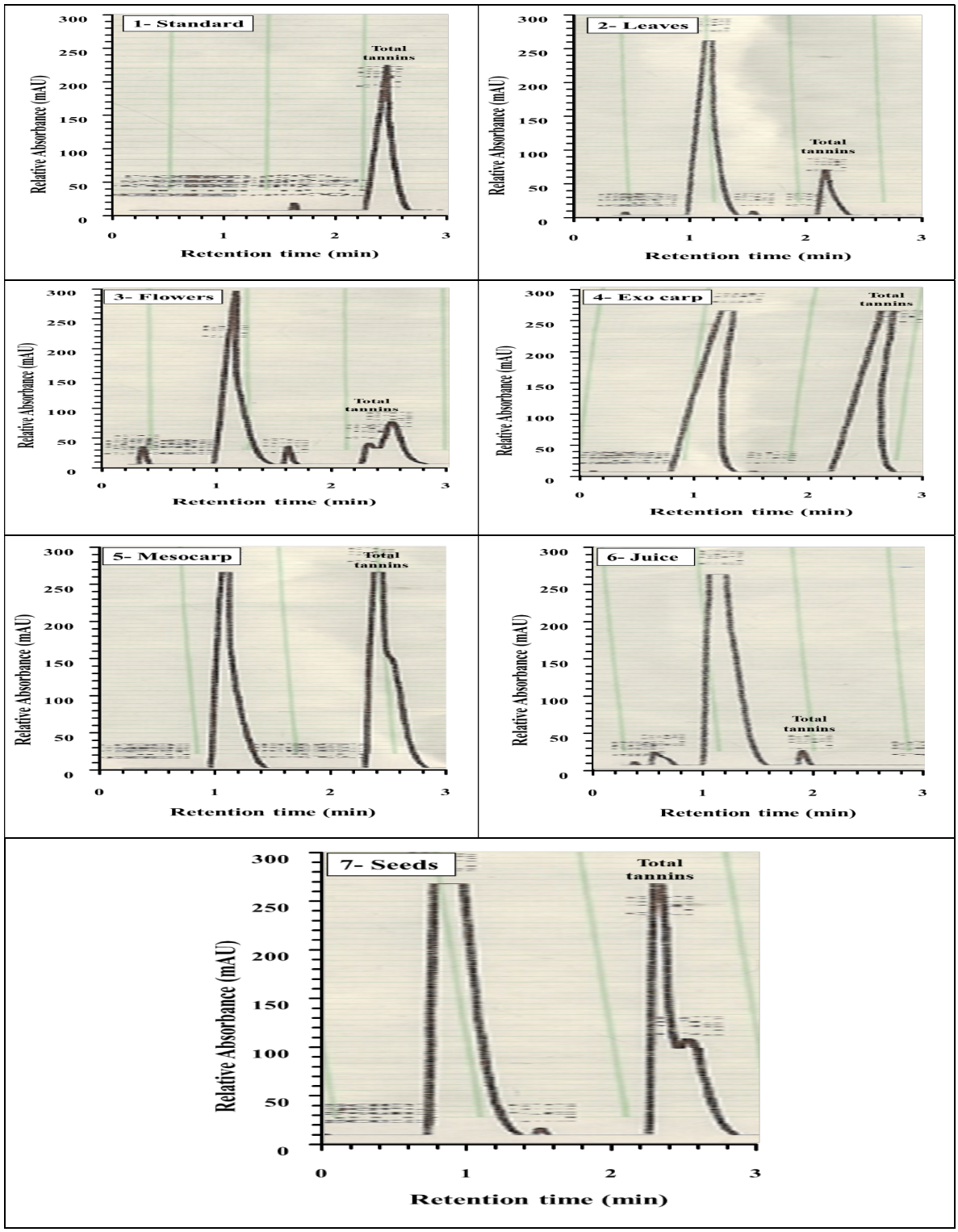
ملحق (2) التحليل الكروماتوجرافي للقلويدات في بعض اجزاء نبات البرتقال باستعمال تقنية HPLC



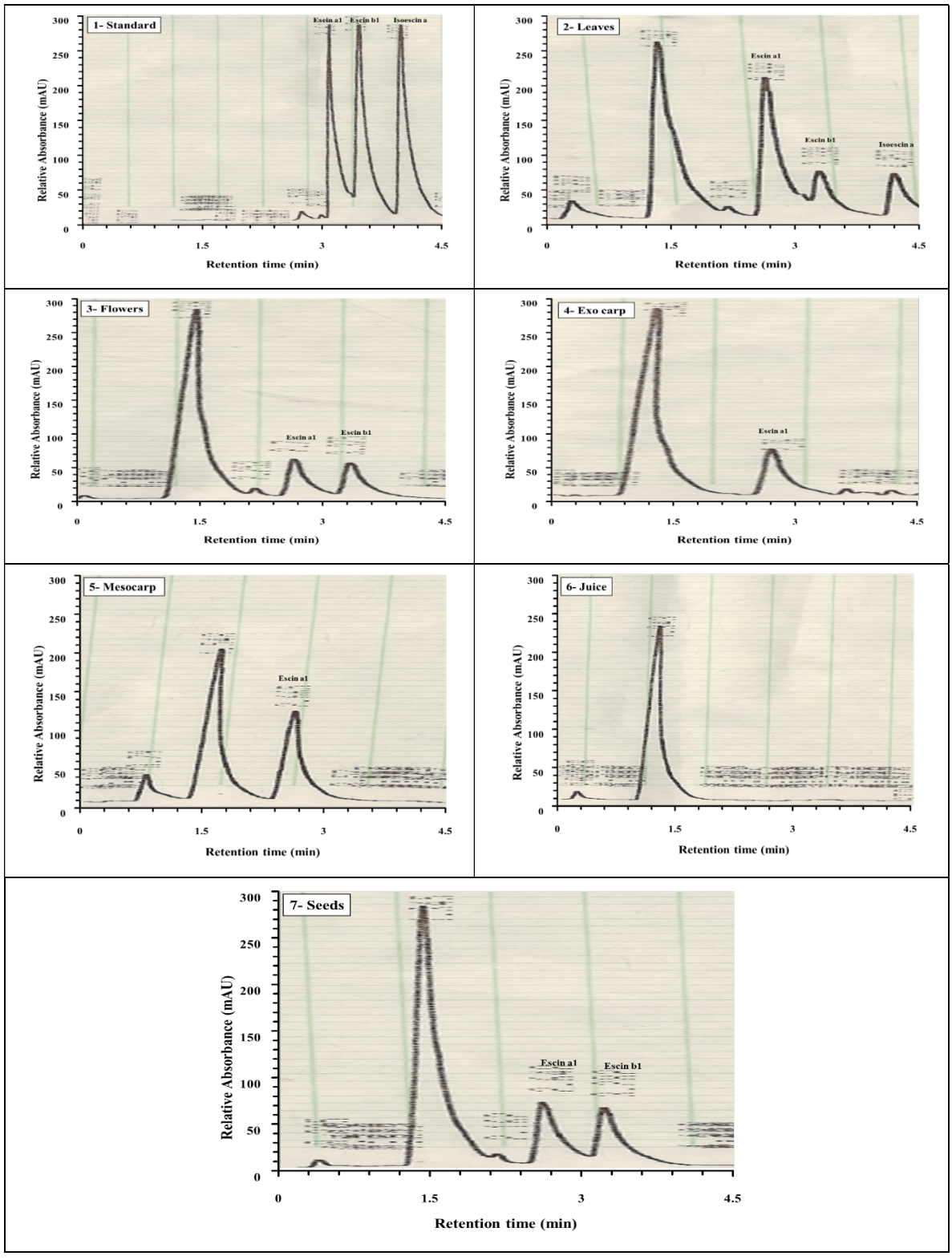
ملحق (3) التحليل الكروماتوجرافي للكاروتينات في بعض اجزاء نبات البرتقال باستعمال تقنية HPLC



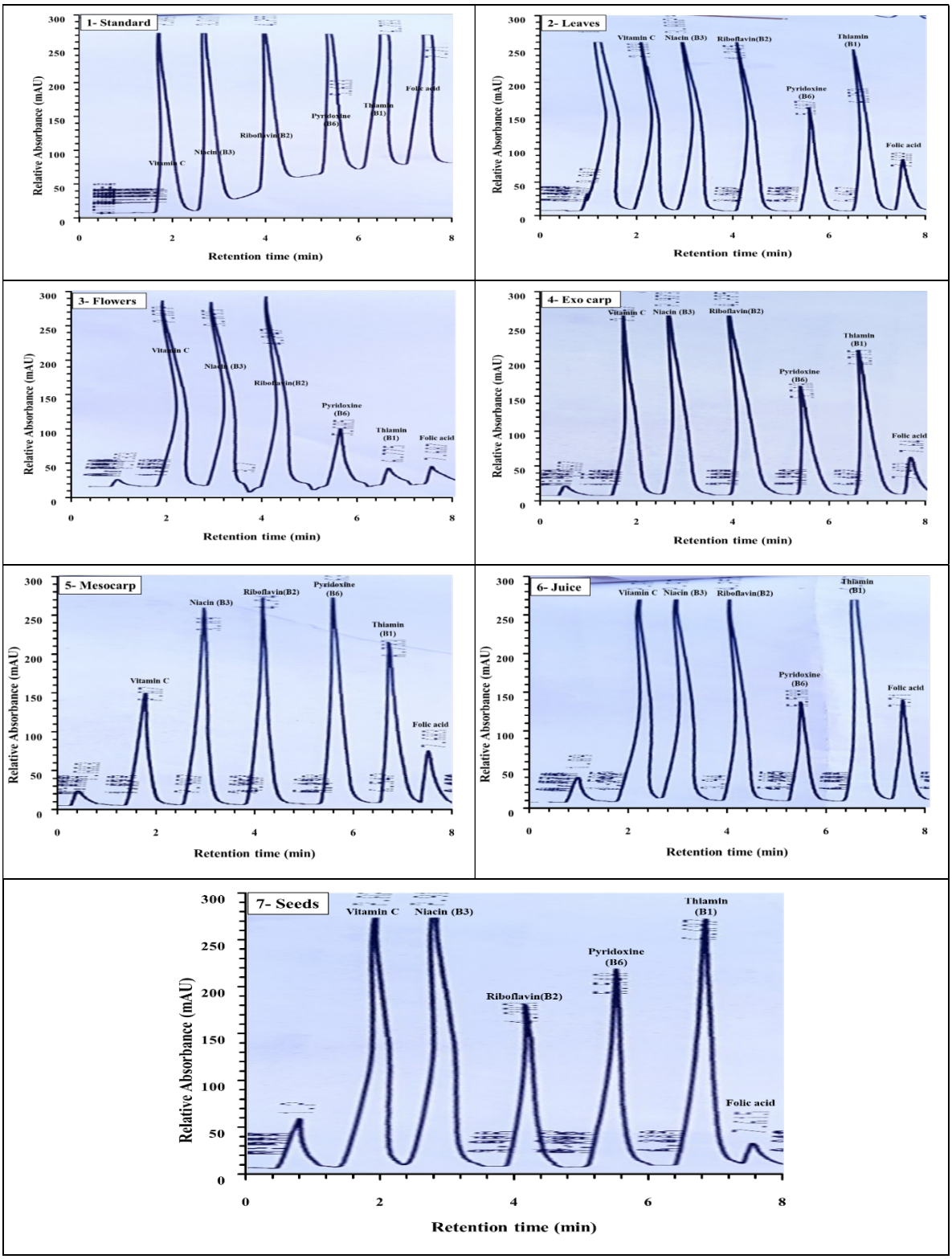
ملحق (4) التحليل الكروماتوجرافي للتانينات في بعض اجزاء نبات البرتقال باستعمال تقنية HPLC



ملحق (5) التحليل الكروماتوجرافي للصابونيات في بعض اجزاء نبات البرتقال باستعمال تقنية HPLC



ملحق (6) التحليل الكروماتوجرافي للفيتامينات في بعض اجزاء نبات البرتقال باستعمال تقنية HPLC



Summary

The present study aims to evaluate the content of the active compounds, such as: phenols, alkaloids, carotenoids, tannins, saponins, and the water-soluble vitamins, for the extracts of some parts of the orange plant *Citrus sinensis* L.Osbeck, which include: leaves, flowers, the exocarp of the fruits, the mesocarp of the fruits, as well as the juice and seeds. The results showed that the highest concentration of active compounds in the orange plant was for vitamins dissolved in water, which amounted to 442.28 $mg.g^{-1}$, followed by phenols at a concentration of 122.13 mg. g-1, then carotenoids, tannins, alkaloids and saponins, with concentrations of 27.67, 20.78, 10.81 and 1.29 $mg.g^{-1}$ sequentially. The antioxidant efficacy of these compounds was assessed by determining the Total Phenolic Content (TPC), Total Flavonoid Content (TFC), manufactured Free Radical Test (DPPH) 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl as well as the testing of ferric reductase ability (FRAP) Ferric Reducing Antioxidant Potential .

The leaves are superior in their (TPC) which record the highest concentration of 145.71 mg(GAE) $.g^{-1}$ in comparison with the juice, which recorded the lowest (TPC) 57.18 mg(GAE) $.g^{-1}$. Though the highest (TFC) in the mesocarp of fruit is 11.14 mg Querecetin $.g^{-1}$ compared to 5.81 mg.Querecetin. g^{-1} in the juice, which gave the lowest (TFC)

On the other hand, the result of statistical analysis showed significant difference among the parts of orange plant at the probability of $P < 0.05$ in antioxidant activity. The result showed that the highest antioxidant activity, detected by using the DPPH scavenging test of the flowers is 2.64 mg. ml^{-1} While the lowest value of the free radicals DPPH inhibition, which was 0.86 mg. ml^{-1} was obtained from exocarp.

Moreover, the flowers reported the highest antioxidant activity with the FRAP test and gave the highest value of ferric ion reduction which was 0.73 mM Fe^{2+} g^{-1} while the leaves recorded the lowest ferric ion reduction value of 0.32 mM Fe^{2+} g^{-1}. The statistical analysis results indicated a positive correlation between the (TPC), (TFC) and the antioxidant activity of DPPH free radical test with value of 0.385 and 0.484 respectively. The results also showed a weak linear correlation coefficient between the (TPC), (TFC) and the antioxidant activity of FRAP with value of 0.019 and 0.022 respectively.

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education &
Scientific Research
University of Diyala
College of Education for Pure Science
Department of Biology



Evaluation of the Content of Effective Antioxidant Compounds of Extracts of some Parts of the Orange Plant *Citrus sinensis* L.

A Thesis

Submitted to the Council of College of Education for Pure Science- Diyala University In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Biology

By

Eman Mohsin Kadhim
B.Sc.Biology - (2003-2004)

Supervised by

Dr. Najm A. AL-Zubaidy
Professor

Dr. Nagham Saadon Ibrahim
Assistant Professor

March 2021 A.C. **Ragab 1442 A.H.**